

Aus dem zahnärztlichen Institut der Universität Zürich

(Chirurg. Abteilung, Vorsteher: Prof. Dr. med. P. Schmuziger)

Arbeit unter Leitung von P.-D. Dr. H. R. Mühlemann

Die Veränderung der Laktobazillenzahl in der Mundhöhle durch «Amantin»

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Hans Heinz Zwimpher

von Oberkirch (Luz.)

Genehmigt auf Antrag

von Herrn Prof. Dr. med. P. Schmuziger

Zürich 1952

Buchdruckerei Turbenthal AG., Turbenthal

Aus dem zahnärztlichen Institut der Universität Zürich

(Chirurg. Abteilung, Vorsteher: Prof. Dr. med. P. Schmuziger)

Arbeit unter Leitung von P.-D. Dr. H. R. Mühlemann

Die Veränderung der Laktobazillenzahl in der Mundhöhle durch «Amantin»

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der medizinischen Fakultät der Universität Zürich

vorgelegt von

Hans Heinz Zwimpfer

von Oberkirch (Luz.)

Genehmigt auf Antrag

von Herrn Prof. Dr. med. P. Schmuziger

Zürich 1952

Buchdruckerei Turbenthal AG., Turbenthal



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Meinen lieben Eltern
in großer Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
A. Allgemeiner Teil	
1. Bakteriologie der Laktobazillen	7
2. Laktobazillen und Karies	9
3. Hemmung der LB	13
a) Ammoniumion	14
b) Chlorophyll, Vitamin K, Penicillin	19
Chlorophyll	19
Vitamin K	20
Penicillin	22
c) Fluor	25
Trinkwasser mit natürlichem Fluorgehalt	25
Künstlich fluoriertes Wasser	26
Lokale Fluoranwendung	28
Verwendung von Fluor in Mundwasser und Zahnpasta	30
B. Experimenteller Teil	
1. Methodik der Laktobazillenzählung	32
2. Eigene Untersuchungen und Resultate	35
Interpretation und Diskussion der Resultate	38
3. Zusammenfassung	43
Literaturverzeichnis	45

Einleitung

Die Zahnkaries gehört nachweisbar zu den ältesten Erkrankungen des Menschen. Schon in der Literatur der Griechen ist vom Zahnschmerz die Rede, der durch einen nagenden Wurm verursacht werde. Diese und ähnliche Ansichten hielten sich bis ins 18. Jahrhundert. Die medizinischen Vorstellungen über die menschlichen Krankheiten änderten unter dem Einfluß der griechischen Philosophie. Nach der Säftelehre *Hippokrats* (456 v. Chr.) soll die Karies durch die in den Zähnen angehäuften schlechten Säfte verursacht werden. Sie ist, wie jede Krankheit, nichts anderes als eine Auswirkung der gestörten Säftemischung. Diese Ansicht hat sich z. T. im Volksglauben bis auf den heutigen Tag erhalten. Im 18. Jahrhundert entstand, in Anlehnung an *Galen*, die chemische und Entzündungstheorie der Karies. Die Zahl der Forscher und Gelehrten, die dieser Ansicht huldigten, ist unübersehbar. Um die Mitte des 19. Jahrhunderts wurde bereits festgestellt, daß Gärungsprodukte des Zuckers, der Milch und der Buttersäure eine Rolle spielen. Zur gleichen Zeit entstand auch der Streit um die chemische und Entzündungstheorie und es rang sich immer mehr die Ansicht durch, daß die Karies an der Oberfläche der Zähne entstehe. 1843 war es *Erdl*, und er scheint der erste gewesen zu sein, der Mikroorganismen als direkte Kariesursache ansah.

Miller, angeleitet durch *Robert Koch*, gelang es dann, die Mikroorganismen der Zähne und des Mundes zu trennen und zu kultivieren. Durch seine Forschungen und Ergebnisse wurden die Grundlagen der chemisch-parasitären Kariestheorie gelegt. Um die 20er Jahre dieses Jahrhunderts wies es sich dann, daß die Azidobakterien, darunter als wichtigster der Laktobazillus, die Schuld an der Säurebildung und der Karies tragen. Besonders in den USA suchte man auf großer Basis nach Mitteln und Wegen, die

Laktobazillen aus dem Munde zu eliminieren, oder wenigstens ihre Wirksamkeit zu schmälern, um so die Karies zu bekämpfen. Die vorliegende Arbeit soll vorerst aufzeigen, welche Resultate die antibakterielle Kariesbekämpfung vor allem in den Vereinigten Staaten gezeitigt hat. Darauf folgt ein Bericht über eigene Untersuchungen mit einer antibakteriellen Zahnpaste, dem AMANTIN. Resultate und Diskussion darüber folgen im dritten Teil der Arbeit.

A. Allgemeiner Teil

1. Bakteriologie der Laktobazillen (1)

Der *Laktobazillus* *) (*Bacillus* oder *Lactobacillus acidophilus*), im deutschen Sprachgebiet *Bacterium acidophilum* genannt, ist ein Stäbchen von ca. $0,7 \mu$ Breite und $4-5 \mu$ Länge. Häufig ist er lang und dünn, gelegentlich auch pleomorph. Er ist gram-positiv, unbeweglich und nicht sporend, deshalb im deutschen Sprachgebiet *Bacterium* genannt. Er erscheint einzeln, gepaart, in Ketten oder in Palisaden. Bestimmte *Lactobazillus*-Stämme haben die Fähigkeit, aus Kohlehydraten Säure, und zwar meist optisch inaktive Milchsäure, zu bilden.

Sie besitzen wenig oder gar keine proteolytische Aktivität. Sie sind fakultative Anaerobier. Es gibt sogar Stämme, die strenge Anaerobier sind. Bei anaerober Züchtung sind bedeutend mehr LB-Kolonien als bei aerober Züchtung zu erhalten (2).

Aus der Geschichte: Der erste Organismus dieser Art wurde 1881 von *Kerr* im Kefir gefunden (*Bac. caucasicus*). 1892 fand *Doederlein* im sauren Vaginalsekret der Frau einen ähnlichen Organismus: *Bac. vaginalis*. *Oppler* fand 1895 im Magen von Capatienten einen *Bacillus*, der den obigen wiederum ähnlich ist: *Boas-Oppler-Bacillus*. Um 1900 fand man im Stuhl von Säuglingen und erwachsenen Menschen einen *Bacillus*: *Moro-Finkelstein*. *Grigoroff* isolierte 1905 aus Yoghurt drei Organismen, die er in A, B und C unterschied. Endlich wurde der *Lactobacillus acidophilus* im menschlichen Speichel, in kariösen Zähnen und im Magensaft von *McIntosh*, *James*, *Lazarus-Barlow* im Jahre 1922/24 beschrieben.

Kultivierung der LB: Die LB gedeihen auf gewöhnlichem Agar-Nährboden nicht gut. Das Wachstum erfordert ein saures Milieu. Am erfolgreichsten erwies sich folgende Me-

*) *Laktobazillus*, im Folgenden LB genannt.

thode: Die LB werden in eine saure Bouillon verbracht (pH 3,5) und dann auf einen Agar mit Glucosezusatz überimpft. (McIntosh, 1922). Die heute gebräuchlichste Methode wurde von Jay und Kulp (1922) entwickelt. (Vgl. Exp. Teil.) Verschiedentlich wurden Versuche mit anaerober Züchtung unternommen. Erstmals 1925 durch Zusatz von frischer Kaninchenniere. Dann weiter durch Zusatz von Cystein. 1936 wurde ein Verfahren entwickelt (3), nach dem die Kulturplatten mehrmals bis 40 mm Hg evakuiert wurden. Zwischen hinein wurde mit einem Druck bis zu 100 mm Hg CO₂ beigegeben. Schlußendlich beträgt dann der O₂-Druck 0,005 % und der CO₂-Druck 10—15 % pro Atm. Damit wurde das Wachstum so gefördert, daß bereits nach 48 Std. ausgezählt werden konnte, gegenüber normalerweise nach 96 Std.

Kolonien auf den Agar-Platten: Nach 96 Std. bei 37 ° C erscheinen auf dem Kulp-Agar schmale runde, gräulich opake LB-Kolonien von 0,6—1 mm Durchmesser. Sie sind fein granuliert und haben einen scharfen Rand.

Widerstandsfähigkeit: Die LB sind nicht besonders resistent gegen Wärme. Bei 56 ° C gehen sie schon in 25' ein. Bei Zusatz von Phenol bereits in 7'. Die Säureresistenz ist bedeutend größer: Die LB widerstehen während 24 Std. einem pH von 3,5. Das Wachstum hört bei einem pH von 9,1—9,6 auf.

Stoffwechsel: Die LB sind Aerobier oder fakultative Anaerobier.

Biochemie: LB produzieren Säure aus Glucose, Maltose und Lactose (es bestehen zwar Unterschiede bei den verschiedenen LB-Stämmen), nicht aber aus Sucrose, Dextrin, Dulcitol oder Raffinose. Die LB sind Indol-negativ, Methylrot-positiv, NH₃-negativ. Der End-pH in Glucosekulturen beträgt 2,75. Milchsäure wird in wechselnden Mengen produziert.

Pathogenität: Die LB werden zur Hauptsache für die Karies bei Mensch und Tier verantwortlich gemacht. Im übrigen werden keine pathogenen Wirkungen beobachtet.

2. Laktobazillen und Karies

Allgemein wird heute die Karies wie zur Zeit *Millers* als ein chemisch-parasitärer Vorgang aufgefaßt, der am Zahn von außen nach innen geht: Durch Gärungsprodukte der Kohlehydrate (Speiseresten) entstehen mit Hilfe von Azidogenen Säuren, die die anorganische Zahnschubstanz auflösen und den verschiedenen Mundbakterien den Weg ins Zahninnere frei geben. Gestützt auf die Theorie *Millers* (4) begann das Studium der Mundflora, um die kariespathogenen Mundorganismen zu erforschen. Bereits vor 200 Jahren fand *Leuwenhoeck* (5) in der substantia alba = plaques, den *Leptothrix*. Dieser konnte für die Entkalkung des Schmelzes nicht direkt verantwortlich gemacht werden. Im Jahre 1903 isolierte *Goadby* den *Bac. necrodentalis* aus kariösem Dentin. Er selbst betrachtete diesen später nicht als Karieserreger, sondern machte den *Streptococcus* dafür verantwortlich. Im Jahre 1915 fand *Kliger* (6), der der obigen Ansicht opponierte, den *Moro-Bacillus*. Er nahm an, daß er dem *necrodentalis* identisch sei. Fast gleichzeitig mit der *Moro-Tissier*-Gruppe wurde der *Bac. acidophilus* und *bifidus* entdeckt. Sicher ist, daß der LB pleomorph ist, deshalb die verschiedene Bezeichnung bei den Forschern.

1922 fanden *Rodriguez* (7) in den USA und *McIntosh, Lazarus-Barlow*, daß der LB stets mit Karies zusammen in der Mundhöhle vorkommt. Es gelang auf experimentellem Wege mit LB-Reinkulturen Karies zu erzeugen.

1924 wurden mit größer angelegten Versuchen (8) die obigen Ansichten durch *Bunting* gestützt und die Möglichkeit experimenteller Karieserzeugung gefestigt: Die LB sind bei jeder beginnenden Kariesläsion vorhanden. Ausstriche von Mund-LB können, wenn die Organismen unter besten Bedingungen wachsen, und wenn ihre Produkte an einer kleinen Fläche am Zahn zur Einwirkung kommen, in 6—8 Std. kariesähnliche Läsionen erzeugen. Kulturen von LB in Verbindung mit Karies sind sehr pleomorph, ferner morphologisch und biochemisch verwandt mit Kulturen vom Intestinaltyp (*Moro et al.*). Sie verzichteten jedoch auf eine Neubenennung dieser Organismen, und auf eine Einteilung in Untergruppen auf Grund der morphologischen und fermentativen Unterschiede. Weitere Experimente erwiesen, daß das LB Wachstum im Munde durch Anilinfarben eingeschränkt werden kann. Die Anilinfarben gehören zu

den ersten antiparasitären Mitteln im Kampfe gegen die Karies. *Bunting* ist ein großer Förderer der *Millerschen* Theorie, indem er feststellt, daß der Initialvorgang der Karies eine Entkalkung des Schmelzes durch Säure ist, die durch Verdauung der Kohlenhydrate unter Mithilfe von Azidobakterien in Kontakt mit der Zahnoberfläche entsteht.

1926 folgen weitere wichtige Feststellungen desselben Autors (9). An 427 Fällen von Kariesanfälligen und -resistenten entdeckte er, daß in über 98 % der Fälle von Karies stets LB vorhanden waren. Damals wurde angedeutet, daß die Anwesenheit und der Grad der Aktivität der LB-Infektion im Munde abhängig sei von Alter, allgemeiner Gesundheit, Nahrung, allgemeinem Körperstoffwechsel des Individuums. Diese schaffen bei ihrer Wirkung auf den Charakter der Mundsekretion und des lokalen Milieus Bedingungen, welche das LB-Wachstum positiv oder negativ beeinflussen. Ferner stellte der Autor die Theorie auf, daß das LB-Wachstum lokalisiert ist auf bestimmte Orte an der Zahnoberfläche, die mit der Lokalisation der aktiven Karies zusammenfällt, währenddem andere Flächen der Zähne, die von der Karies nicht berührt werden, frei sein mögen vom Vorkommen oder Wachstum dieser Organismen. Der Grad der Entkalkung soll beträchtlich bestimmt sein durch die Konzentration der gebildeten Säure und vom Charakter der Zähne auf welche die LB im Experiment gebracht wurden. Die Zähne eines «Kariesimmunen» erwiesen sich als sehr resistent gegen die so gebildete Säure.

Das Wachstum der LB kann weitgehend durch eine gründliche Prophylaxe (Reinigung) und den Gebrauch von Metaphen eliminiert werden. Wenn sich auch der Metaphengebrauch nicht überall bewährte, so konnte doch in vielen Mundhöhlen eine gewisse antiparasitäre Wirkung beobachtet werden.

Bunting machte später (10) im Anschluß an die Untersuchung von 1335 Kindern verschiedenen Alters folgende wichtige Feststellungen: Es besteht eine geschlossene Beziehung zwischen der An- und Abwesenheit der LB und der Kariesaktivität. Er und andere vertreten nach Beobachtungen während zwei Jahren die feste Ansicht, daß die An- oder Abwesenheit der LB im Munde ein festes Kriterium für die Kariesaktivität darstellt, und zwar soll es genauer sein, als irgend eine klinische Schätzung.

Spontanes Nachlassen der Karies ist verbunden mit dem Verschwinden der LB aus dem Munde. Kariesfreie Individuen, die nach den ersten Untersuchungen LB im Munde aufwiesen, hatten später Karies. Der Kariesgrad und die Aktivität der LB sind offensichtlich in Beziehung mit der Art der Nahrung und der Mundhygiene. Erstere Ansicht ist aber widerlegt mit der Feststellung, daß gewisse Leute, trotz sehr kariesproduzierender Nahrung, keine oder nur wenig kariöse Zähne aufweisen.

Später entdeckte er (11), daß gewisse Individuen eine verschiedene Immunität gegen die LB haben, die von der Geburt bis ins hohe Alter bestehen bleiben kann, andererseits aber während des Lebens erscheinen und wieder verschwinden kann. Selbst während der Immunität, oder trotz derselben, können LB mit der Nahrung aufgenommen werden, ohne daß sie sich im Munde implantieren. Es erwies sich bei experimenteller Ernährung einer großen Anzahl Kinder während einem Jahre mit einer ausgewogenen Diät (fast ohne Zucker), daß die Kinder bei guter Gesundheit blieben, sich normal entwickelten und die LB merklich zurückgingen. Diese Studie an den Kindern bestätigte wiederum die geschlossene Beziehung zwischen dem Auftreten der LB und dem nachfolgenden Kariesanfall.

Anno 1932 stellten *Hadley* und *Bunting* (12) fest, daß auch bei Kariesresistenten LB vorkommen und zwar mehr als man bisher feststellte. Dies aus 2 Gründen: 1. Sind die LB sehr pleomorph, 2. Atypische Formen wurden bis anhin nicht als positiv bewertet. Trotzdem sind bei kariesresistenten Individuen bedeutend weniger LB als bei den kariesanfälligen zu finden.

Jay (13) unterstützt die gemachten Ergebnisse: Kommen LB bei „Kariesimmunen“ vor, so ist das meist vorübergehend. Sollten LB in Mundhöhlen, die als kariesfrei angesehen wurden, vorkommen und während längerer Zeit in großen Mengen verbleiben, so wird in Kürze Karies auftreten. Ferner gelang es nicht, LB-Kulturen bei „kariesimmunen“ Menschen und Tieren zu implantieren. Die Laktobazillen-Zahl im Speichel von Kariesanfälligen kann durch kohlenhydratarme Diät stark reduziert werden.

Becks, Jensen, Millarr bestätigen (14) durch ihre großangelegten Versuche in eindrucklicher Weise die bis anhin gemachten Feststellungen auf dem Gebiete Karies und LB.

Bei Kariesaktiven und -inaktiven stießen sie auf positive und negative Indices.

Unter 1250 Fällen von florider Karies hatten 1096 oder 87,7 %, Laktobazillen-Zahlen *) über 1000 pro cem Speichel. Unter 265 Kariesfreien hatten 218 oder 82 % LBZ unter 1000. Daraus folgerten sie: *Es besteht eine geschlossene Beziehung zwischen der An- oder Abwesenheit der LB einerseits und der Kariesaktivität und -inaktivität andererseits. Folglich bedeutet die Anwesenheit der LB ein signifikantes Merkmal und dieses Merkmal stellt einen qualifizierten Labor-Indikator dar zur Diagnose und Prognose der Karies.*

Becks und Jensen waren unter den ersten, die versuchten, durch Einschränkung der Kohlenhydrate die Karies zu bekämpfen. Sie stellten die LBZ und die Kariesläsionen im Munde fest und verglichen anschließend die beiden Zahlen.

In folgender Tabelle sind die Resultate zusammengestellt:

LB-Index bei florider Karies und Karies-freien Fällen

Gruppen	Anzahl Fälle	LB-Index				
		1	2	3	4	5
		0—299 0	300—999 +	10 ³ —9999 ++	10 ⁴ —49999 +++	50000 + ++++
I Floride Karies	1250	111 8,9 %	43 3,4 %	232 18,6 %	392 31,4 %	472 37,7 %
Total	1250	154 = 12,3 %		1096 = 87,7 %		
II Karies-frei	265	208 78,5 %	10 3,8 %	34 12,8 %	10 3,8 %	3 1,1 %
Total	265	218 = 82,3 %		47 = 17,7 %		

Nun kurz zu den Ergebnissen des Experimentes: In 1004 (81,7 %) von 1228 Kindern mit florider Karies erreichten sie einen verkleinerten LB-Index dadurch, daß während fünf Wochen der raffinierte Zucker eingeschränkt wurde. Diesen Kalorienverlust egalisierte man durch vermehrte Zufuhr von Fleisch, Gemüse, Milch und Milchprodukten. Diese Reduktion des LB-Index ist der Kohlenhydrat-Einschränkung zuzuschreiben, somit ein wirksames Mittel zur Kariesbekämpfung.

Die Senkung des LB-Index war außerdem gefolgt von einer

*) Laktobazillen-Zahl, im Folgenden LBZ genannt.

drastischen Abnahme der Karies: In einer Gruppe von 790 Fällen florider Karies (Entstehung von 10 und mehr Läsionen seit dem vorangegangenen Kontrolljahr) gelang es, neue Läsionen in 80 % der Fälle zu verhüten. Darunter waren 62,3 %, die vollständig intakt blieben (keine neue Läsion), während in weiteren 17,2 % nur ein bis zwei neue Läsionen entstanden. In 656 Fällen, die günstig ansprachen mit der LB-Senkung, entwickelten sich in 71,7 % keine neue Kavitäten und in 88,4 % nur deren ein bis zwei. Daraus wurde der wichtige Schluß gezogen, daß eine bestimmte Beziehung zwischen der LBZ-Senkung und der Reduktion der Kariesaktivität besteht. 10 000 *) und mehr LB pro ccm Speichel zeigen Kariesaktivität an (15). In diesen und anderen Veröffentlichungen wird nochmals betont, daß der LB-Index die Wirksamkeit kariesvorbeugender Mittel wieder spiegelt. Damit ist ein relativ einfaches Mittel in die Hand gegeben, die Kariesaktivität festzustellen, anhand desselben man die Therapie richten kann. Schon damals wurde angetönt, daß solche Speicheluntersuchungen in der Privatpraxis kaum durchzuführen sind. Wohl müßten dann die öffentlichen Laboratorien und Universitätsinstitute Hand dazu bieten, ganz abgesehen davon, daß weiter keine neuen Kenntnisse nötig sind und keine neuen Einrichtungen angeschafft werden müssen. Einzig das schon vorhandene Personal müßte kurz instruiert werden. Selbst die entsprechenden Institute der schweizerischen Universitäten könnten solche Untersuchungen vornehmen.

3. Hemmung der LB

Die Versuche, mit einer ausgewogenen Diät, bei welcher raffinierter Zucker und Kohlenhydrate eingeschränkt werden, haben gezeigt, daß noch andere Faktoren Karies bewirken können, denn der Zuckergenuß ist nicht Alleinursache der Zerstörung der Zähne. Es wurde gelegentlich beobachtet, daß gewisse Individuen, trotz hohen Zuckergenusses wenig Kavitäten aufweisen und umgekehrt. Deshalb suchte die Wissenschaft nach weiteren karieshemmenden Mitteln. Sei es, um die LB im Wachstum zu hindern, oder die Zähne

*) Die Angabe der Anzahl LB/ccm Speichel als Grenze zwischen Kariesinaktivität und -aktivität schwankt je nach Autor oder Züchtungsverfahren.

vor dem Säureangriff zu schützen, oder auch hindernd in den Kohlenhydrat-Abbau, resp. in die Säurebildung im Munde einzugreifen. An Hand der Literatur haben wir die wichtigsten Mittel und Wege herausgegriffen, die mit wechselndem Erfolg, gerade in den USA in vivo oder in vitro ausprobiert wurden.

a) Ammoniumion

Bereits vor 60 Jahren beobachtete *Miller* (16), daß Mischungen von Speichel und Eiweiß ein alkalisches Milieu erzeugten, das bei Zufuhr von Zucker sauer wurde. Schon damals glaubte er, daß das Speichel-Ammonium ein karieshemmender Faktor sei. *Grove* und *Grove* (17) fanden bei Kariesresistenten eine höhere Ammoniummenge im Speichel als bei Kariesaktiven. *White* u. *Bunting* (18), die die obigen Versuche wiederholten, konnten keine Beziehung zwischen dem Speichel-Ammoniumgehalt und der Kariesaktivität finden.

Kesel und *O'Donnell* haben festgestellt (19), daß der im menschlichen Speichel durch natürliche Prozesse entwickelte Ammonium-Stickstoff das Wachstum der LB hemmt. Dibasisches Ammoniumphosphat verminderte, angewendet in Mundwasser und Zahnpasten, die LB im Munde. Sichere Ergebnisse im Sinne eines Kariesstillstandes wurden keine beobachtet. Die LBZ sanken nicht auf Werte, anhand derer von einem Stillstand der Karies gesprochen werden konnte. (Leider unterlassen die Autoren diesbezügliche Zahlenwerte.) Diese Beobachtungen bestätigen, daß die Anwendung von «Ammonium»-Mundwasser und -Zahnpasten beim Durchschnittsmenschen mit üblicher Ernährungsweise die Karies nicht sicher eindämmt. Weitere Untersuchungsergebnisse wurden veröffentlicht (20), die aber der wissenschaftlichen Nachprüfung nicht ganz standhalten, da nur sechs Untersuchungspersonen teilnahmen. Während 18 Monaten hatten diese, vor oder nach dem Frühstück und dem Abendessen, die Zähne mit einer 45 %-igen Harnstofflösung zu bürsten. Die Anzahl der intakten Zahnflächen vor und nach dem Versuch wurden miteinander verglichen. Die Versuchspersonen hatten nur 8 neue Läsionen, während bei der Kontrollgruppe 152 (!) neue Läsionen beobachtet wurden.

Grove und *Grove* machten zur Bestätigung der Ammonium-Theorie folgende In-vitro-versuche (21) : 0,2 ml einer 0,006 %-igen Ammoniumlösung wurden zum *Snyder*-Medium, in dem Speichel

bebrütet wurde, beigegeben. Die Säureproduktion der LB zeigt sich hier durch einen Farbwechsel von Bromkresolgrün. Dieser blieb bei allen 25 gemachten Proben aus, was dahin interpretiert wurde, daß durch Ammonium im Munde auch das LB-Wachstum ausbleibt.

Kesel u. a. (22) zeigten, daß Filtrate von Kulturbouillon acht Tage nach der Beimpfung mit Speichel von Kariesfreien das LB-Wachstum hemmten, während analoge Filtrate von Kariesaktiven dies nicht vermochten. Im weiteren stellte sich die Frage (23), ob Ammoniak oder dessen Alkalität den LB-hindernden Faktor ausmachen. In-vitro-Versuche bestätigen, daß Na-Azetat (pH 7,5) in verschiedener Verdünnung die LB-Kulturen nicht beeinflußt, wohl aber verhindert Ammoniumazetat ein LB-Wachstum.

1946 veröffentlichte *Cary* einen Bericht (24), der sich mit der Anwesenheit und Bildung von Ammonium-Stickstoff im Speichel befaßt. Darin wird erwähnt, daß die Speicheldrüsen weder ex- noch sekretorische Funktion in der Bildung von Ammonium haben. Ammonium stammt von Bakterien, die sich im Munde befinden. Man untersuchte die N-haltigen Bestandteile des Speichels, maß das gebildete Ammonium und schloß daraus, daß der größte Teil des N-haltigen Materials in 24 Std. mit Hilfe von Bakterien in Ammonium umgewandelt wurde.

Stephan (25) richtete nun sein Augenmerk auf den Harnstoff und seine Wirkung, wenn er künstlich unter den Speichel gemischt wird. *Stephan* entdeckte, daß es nicht die chemische Pufferwirkung des von den Speicheldrüsen abgesonderten Speichels allein ist, die die Säure-plaques auf den Zahnoberflächen neutralisiert, sondern der im Speichel enthaltene H a r n s t o f f an der Zahnoberfläche durch bestimmte, Urease-enthaltende Bakterien (*Staphylococcus aureus*, *albus*) in Ammoniumcarbonat umgewandelt wird. Dieses neutralisiert diverse kariesfördernde Säuren. Urease ist nicht im Speichel gelöst, sondern als Endoenzym in den Bakterien enthalten. Mit spitzen Antimonelektroden und pH-Meter wurde nachgewiesen, daß Mundspülungen mit 10 0/0-iger Traubenzuckerlösung den pH der plaques und Kavitäten nach der sauren Seite verschieben. Er zeigte dann im Vergleich mit einer Test-pH-Kurve, daß eine vierminütige Mundspülung mit 10 ccm einer 50 0/0-igen Harnstofflösung, gefolgt von mehrmaligen Spülungen mit aq. dest., den pH der plaques in den Kavitäten langdauernd nach der alkalischen Seite an-

steigen ließ. Dieser pH-Anstieg wurde durch zusätzliche Spülung mit 10 %iger Traubenzuckerlösung nicht mehr wesentlich beeinflußt und hielt bis zu 24 Std. an.

Ein Zahnpulver und Mundwasser mit 5 %o dibasischem Ammoniumphosphat wurden von 33 Personen mit hohen LBZ ein Jahr lang regelmäßig gebraucht (26). Da ergab die Untersuchung nach dem Experiment bei allen Personen deutlich reduzierte LBZ. Bei zehn kariesanfälligen Kontrollpersonen mit üblicher Mundpflege veränderte sich die LBZ dagegen nicht.

Henschel und *Lieber* stellten weitere Untersuchungen auf breiterer Basis an und fanden deutliche Erfolge in der Kariesbekämpfung (27). Der Gebrauch einer Ammonium-Zahnpasta (22,5 %o Carbamid = synthetischer Harnstoff und 5 %o dibasisches Ammoniumphosphat) wies ferner deutliche Vorteile gegenüber den gewöhnlichen kosmetischen Zahnpasten auf. Diese Ergebnisse werden zwar angezweifelt (28), da sie altersmäßig nicht logisch aufgebaut seien.

Die Verwendung von ammoniakhaltigen Lösungen wurde immer beeinträchtigt durch den schwer zu maskierenden Geruch und Geschmack. Schon *Grove* und *Grove* (29) empfahlen eine schwache Ammoniumhydroxydlösung als prophylaktisches Mundwasser. *Wach* und andere (30) Chinin und Harnstoff. (Chinin ist in diesem Falle das Bakteriostatikum, während Harnstoff für das Chinin nur das optimale alkalische Milieu schaffen muß.)

Auch der im Vitroversuch wirksamste Stoff erwies sich als unbrauchbar, da er in Lösung unbeständig ist, den Ammoniakgeschmack hat und in der gewünschten Konzentration im Munde ein leichtes Brennen erzeugt. Auf Grund weiterer Ergebnisse (31) wurde dibasisches Ammoniumphosphat in 5 %o-iger Lösung gewählt.

Es wurde jedoch im Verlaufe der Versuche (32) durch *Fosdick* festgestellt, daß trotz dieser Medikation ein teilweiser Abbau von Zucker stattfindet, die Säure jedoch vom Ammoniak gepuffert wurde. Um diese verbleibende Milchsäurebildung zu verhindern, griff man auf Grund vorheriger Arbeiten (30) auf Harnstoff zurück und kombinierte diesen mit Ammoniumion. Als beste Kombination erwies sich zuletzt 3 %o-iger Harnstoff mit 5 %o-igem 2-basischem Ammoniumphosphat. Diese Lösung übertraf im Vitroversuch diejenige ihrer einzelnen Bestandteile, in-

dem die Milchsäurebildung ganz ausblieb und das pH während 48 Std. konstant auf 7,8 blieb.

1951 veröffentlichten *Davies* und *King* einen Bericht (33), der die Wirksamkeit einer Zahnpasta obiger Zusammensetzung zum Gegenstand der Prüfung hatte. Die Resultate stehen in gewissem Gegensatz zu denen *Kerr/Kesels* (34). Dann ist noch festzuhalten, daß die Zahnreinigung der Versuchspersonen nicht unter strenger Aufsicht stand. Die Personen pflegten ihre Zähne weiter, wie sie es bis anhin gewohnt waren. Knaben und Mädchen im Alter von 12 bis 14 Jahren und Erwachsene beider Geschlechter von 19—31 Jahren nahmen am Versuch teil. Die Anzahl der Personen betrug 300. Die Resultate der Experiment- und Kontrollgruppen sind im folgenden in Tabellen wiedergegeben. Sie dienen auch dem Zweck, aufzuzeigen, wie die Ergebnisse statistisch ausgewertet werden. Die LBZ wurden nach folgendem Schema in Gruppen eingeteilt:

Keine	LB	im ccm Speichel: —
1—40,000	LB	im ccm Speichel: +
40—500,000	LB	im ccm Speichel: ++
500,000 u.m.	LB	im ccm Speichel: +++

Dann wurden die LBZ in den einzelnen Zahlengruppen zwischen der Experiment- und der Kontrollgruppe am Anfang und Ende der Untersuchung festgestellt. Zwischen den beiden ergibt sich keine statistische Signifikanz:

a) Bei Beginn:	—	+	++	+++	Total
Experiment	18	25	65	52	160
Kontrolle	12	19	76	40	147
Total	30	44	141	92	307
b) Am Ende:	.	+	++	+++	Total
Experiment	20	30	82	28	160
Kontrolle	20	27	72	28	147
Total	40	57	154	56	307

Dann wurden für einen Teil der Personen nach einem Monat und am Ende und für alle am Ende des Versuches die Zunahmen, Abnahmen und gleichbleibenden LBZ zusammengestellt und auf Signifikanz geprüft. Eine statistische Signifikanz ergibt sich aber nur für einen Teil der Personen nach einem Mo-

n a t. (Die Angaben sind jeweils numerisch (n) und in Prozenten (0/0) angegeben *).

c) Nach einem Monat (für einen Teil):

	LBZ						SNYDER					
	Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied		Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied	
	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0
Experiment	13	25	23	44	16	31	5	10	26	50	21	40
Kontrolle	16	31	9	18	26	51	8	16	18	35	25	49

Hier ergibt sich eine statistische Signifikanz.

d) Am Ende (für einen Teil):

	LBZ						SNYDER					
	Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied		Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied	
	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0
Experiment	12	18	23	35	31	47	81	47	12	18	39	60
Kontrolle	16	26	17	28	28	46	6	11	26	47	24	42

Keine statistische Signifikanz mehr.

e) Für alle Personen am Ende des Experimentes:

	LBZ						SNYDER					
	Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied		Zunahme		Abnahme		Kein Unterschied	
	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0	n	0/0
Experiment	35	22	57	35	69	43	38	24	76	47	47	29
Kontrolle	31	21	54	37	62	42	28	18	69	45	55	36

Auch hier wiederum keine Signifikanz.

Die schlechteren Resultate sind vielleicht gerade dem Umstand zuzuschreiben, daß die Zahnhygiene nicht unter Aufsicht stand, wie dies ja im täglichen Leben, und darauf kommt es schließlich an, der Fall ist.

Ein Bericht aus dem gleichen Jahre stammt von Versuchen, die sich ungefähr in der gleichen Richtung bewegten (35). *Pearlman* und *Hill* zogen unter anderem folgende Schlüsse: Das Wachstum der LB in modifizierten Nährmedien wurde verhindert bei relativ hohen Konzentrationen von Na-Ammonium- oder K-Phosphat. Die hindernde Wirkung von Ammoniumphosphat konnte aber nur ge-

*) Kultivierung der LB nach 2 verschiedenen Verfahren.

zeigt werden bei einem pH alkalischer als 7,0. Anzeichen dafür sind vorhanden, daß andere Salze fähig sind, eine ähnlich hindernde Wirkung auszuüben, vorausgesetzt, daß sie eine Pufferwirkung über pH 7,0 ausüben.

Die Aktion der Stoffe, die das LB-Wachstum eindämmen, scheint nicht bakterizider Natur zu sein. Das Wachstum der LB wurde für 24 Std. unterdrückt in Anwesenheit von 6 % Harnstoff und wurde verzögert bei geringerer Konzentration. Gegenüber oben wurde festgestellt, daß die Wachstumsverhinderung bei der Kombination von Harnstoff und Ammoniumphosphat im Nährmedium nicht signifikant größer ist, als die Wirkung jeder Substanz allein.

b) Chlorophyll, Vitamin K, Penicillin

Chlorophyll wurde 1932 von *Bürgi* offiziell als Pharmakon eingeführt (36). Dieses wird gewonnen durch chemische Ausziehung aus Alfalfa und anderen botanischen Spezies. Seit 1945 wird es in Medizin und Klinik verwendet. Klinische und laborielle Erfahrungen deutscher und amerikanischer Forscher bestätigen, daß chlorophyllhaltige Präparate die Wundheilung beschleunigen. Außerdem erreichen sie eine milde bakteriostatische Wirkung. Auch sollen sie die Heilung von Ekzemen, wie *ulcus cruris* usw. günstig beeinflussen. Frappant ist der desodorierende Effekt dieser Präparate. Chlorophyllpräparate, die durch die offiziellen Stellen in den USA geprüft wurden, sollen keine toxischen Schäden hervorrufen, noch sonstwie irritieren (37). *Chloresium*-Lösung und Zahnpaste (*Rystan Comp., Inc.*), seit 1948 zum Gebrauche zugelassen, werden empfohlen bei Plaut-Vincent-Infektion, sowie als unterstützendes Mittel bei allen Periodontalbehandlungen, zur Behebung des «dry sockets», von Osteomyelitis und Gingivitiden. Doch wird betont, daß die Ansprüche, die man an diese Präparate stellt, noch nicht genügend substantiell erwiesen und weitere klinische Untersuchungen vonnöten seien.

Über Chlorophyll und seine Anwendung im zahnärztlichen Gebiet ist wenig veröffentlicht. Zur Hauptsache wird es immer noch zur *Desodorierung* verwendet. (Vgl. z. B. die Anpreisungen in der Reklame über «*Air fresh*».) Die *desodorierende Eigenschaft* wird zwar noch als sekundär betrachtet, primär hat Chlorophyll eine ausgesprochen tonisierende und stimulierende Wir-

kung auf den gesamten Zellstoffwechsel und die Gewebeatmung. Diese Anwendung, die Desodorierung, bestätigt sich in folgenden Fällen: Bei Mundgeruch, herrührend von Speisen, Alkohol, Rauchen (Halitosis), Selbst unangenehmer Uringeruch nach Genuß von Spargeln soll nach der Einnahme von Chlorophylltabletten innert 10 Min. verschwinden. (Vgl. Angaben über *Phyllodor*.) Auch Körper- und Menstruationsgeruch sollen auf diese Weise bekämpft werden. In Kriegslazaretten, wo Patienten mit schwer eitrigen Wunden lagen, wurden dieselben mit Chlorophyllsalben und wässerigen Lösungen behandelt und dadurch innert 48 Std. geruchfrei. Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, daß entgegen den obigen Feststellungen Chlorophyll Toxizitätsgrenzen besitzt, sowohl für die parenterale wie perorale Anwendung. (Genaue Angaben werden leider unterlassen.)

Rapp hat 1949 Versuche unternommen, den hemmenden Einfluß von chlorophyllhaltigen Mundpflegemitteln auf das LB-Wachstum zu prüfen (38). Bei den Untersuchungspersonen wurde während 6 Wochen wöchentlich die Bakterienzahl festgestellt. Dann mußte ein Teil der Untersuchungspersonen zweimal täglich die Zähne mit einer Chlorophyllpaste (*Chloresium*) reinigen, während ein anderer Teil eine gewöhnliche Paste, dafür ein Chlorophyllmundwasser verwendete. Nach 10 Tagen waren 26 % aller Personen frei von LB, nach 26 Wochen 90 % in beiden Gruppen. Wie die Versuche zeigen, ist es nicht unbedingt nötig, die Zähne mit einer Chlorophyllpaste zu reinigen, indem schon das Spülen mit einer Chlorophylllösung die gleich günstigen Resultate ergibt. Da der Befall mit LB in direktem Zusammenhang mit der Karies steht, kann aus diesen Untersuchungen geschlossen werden, daß die Karies durch die Verwendung von chlorophyllhaltigen Mundpflegemitteln, wenn nicht verhindert, so doch reduziert wird.

Vitamin K: *Fosdick* hat 1937 (39) bei In-vitro-Versuchen aus mit Glucose vermischtem Speichel einige für den Zahn schädliche Substanzen, insbesondere Brenztraubensäure, isoliert. Im Munde werden diese Säuren durch Bindung an Kalk, der den Zähnen entzogen wird, sofort neutralisiert. Bei den In-vitro-Versuchen wird die Säuremenge durch Feststellung des im Speichel in gelöster Form vorhandenen Kalziums bestimmt. Dabei wurde festgestellt, daß Speichel, der gepulverten Schmelz enthält, durch Beigaben von Glucose 140–400 % kalziumreicher ist, als solcher

ohne Glucose. Mit einem eigenen Verfahren suchte *Fosdick* nach Substanzen, die das Kalkauflösungsvermögen des glucosehaltigen menschlichen Speichels aufheben. Dabei stieß er bei Versuchen mit Vitaminen auf das Vitamin K. Dieses zeigte eine außerordentlich starke Hemmung des Kalkauflösungsvermögens. Ein Speichel, der ohne Glucosezusatz 7.5 mg % resp. nach Glucosezusatz 17 mg % Kalzium enthielt, wies nach Vermischung mit Vitamin K₃ (2-Methyl-1.4-naphthochinon) nur 3.4—4.5 mg % Kalzium auf. Vitamin K vermochte das Kalkauflösungsvermögen des glucosehaltigen Speichels aufzuheben.

Ließ sich diese im Experiment gefundene Wirkung des Vitamin K nicht auch auf die Kariesprophylaxe ausdehnen? 119 Hochschüler mit besonderer Kariesanfälligkeit wurden in zwei Gruppen eingeteilt: Die einzelnen Teilnehmer verpflichteten sich, nach jedem Essen 10 Min. lang eine Kaugummizubereitung zu kauen, die bei der einen Versuchsgruppe (2) ein gewöhnliches Handelsprodukt ohne Vitamin K, bei der anderen (1) dagegen 0,75 mg des Na-bisulfit-Additionsproduktes von Vitamin K₃ enthielt. Beiden Versuchsgruppen war unbekannt, ob sie Kaugummi mit oder ohne Vitamin K erhielten. Nach 6, 12 und 18 Monaten wurden Röntgenkontrollen und nach 18 Monaten noch klinische Kontrollen durchgeführt. Das Ergebnis wurde verglichen mit: a) den Ergebnissen bei den Studenten, welche nicht für den Versuch herangezogen wurden (sehr kariesresistente Individuen) (3), b) den von *Klein* gesammelten Daten und c) den von *Armstrong, Dean, Singleton* gesammelten Kariesfrequenzzahlen von Kadetten des Küstenwachtkorps (5). Es ergibt sich folgendes Gesamtbild:

Gruppe 1: (Kaugummi mit Vitamin K) weist von sämtlichen Gruppen am wenigsten neue Kavitäten auf. Ausgehend von diesem Resultat lauten die Ergebnisse bei den übrigen Gruppen wie folgt:

Gruppe 2: (Kaugummi ohne Vitamin K) = 72 % mehr Karies.

Gruppe 3: Kariesresistente Studenten ohne Kaugummi) — 118 % mehr Karies.

Gruppe 4: (Resultate von *Klein*) = 250 % mehr Karies.

Gruppe 5: (Kadetten des Küstenwachtkorps) = 415 % mehr Karies.

Die durch Vitamin K erreichte Karieseindämmung war also recht beträchtlich. Doch ist zu berücksichtigen, daß allein schon

der Gebrauch von Kaugummi nach dem Essen eine beträchtliche antikariöse Wirkung (Reinigung!) entfaltete, wie auch aus dem Resultat von Gruppe 2 hervorgeht.

Vitamin K scheint ferner nach *Fosdick* (40) als Kariesprophylaktikum ähnlich zu wirken wie Fluor, indem es die Kette der normalen, phosphorylierten Zwischenprodukte beim Kohlenhydratabbau an definierter Stelle blockiert und damit die physiologische Entstehung saurer Produkte, insbesondere der Brenztraubensäure, verhindert. Außerdem besitzt es antibakterielle und fungizide Wirkungen, sodaß eine Beeinflussung der Zahnkaries durch Vitamin K noch von der bakteriellen Seite möglich ist.

Penicillin: Über seine allfällige karieshindernde Wirkung wurden größere Untersuchungen angestellt. *Zander* stellte 1947 fest (41): Die Vitroexperimente zeigen, daß kleine Mengen Penicillin, einer Glucose-Speichelmischung beigegeben, den Kohlehydratabbau hemmen. Der Gebrauch von Penicillinmundwasser und -paste zeigte in einem Versuch an Studenten, daß Speichel, vermischt mit Glucose, eine reduzierte Säureproduktion besitzt, ohne daß die Zusammensetzung der Mundflora ändert. Weder Rauchen noch Essen hatten dabei einen Einfluß. Aus Tierversuchen stammen folgende Resultate: Hamster, deren Zähne mit oder ohne Penicillinpaste während 34 Tagen gereinigt wurden, hatten nachher im Mittel 1.14 kariöse Zähne mit, 3.87 kariöse Zähne ohne Penicillinpaste. Eine Gruppe Hamster, die keine Pflege erhielten, hatten im Mittel 9.3 kariöse Zähne. Allen Tieren wurde dabei eine kariesfördernde Nahrung verabfolgt.

Weiter wurde 1947 durch *Hill* die Wirkung einer Penicillinpaste auf das LB-Wachstum an 154 Knaben eines Institutes geprüft (42). Vor dem Versuch wurden mehrmals die LBZ bestimmt, ihr mittlerer Wert diente als Basis. Die LBZ zwischen 0—50 000 u. m. teilte man in Klassen ein. 86 Knaben dienten der bloßen Kontrolle (ohne P.). Die Anwendung der Paste hatte zweimal im Tage zu erfolgen. Der Versuch dauerte fünf Monate.

Hier die Resultate:

	Kontroll- gruppe	Experiment- gruppe
	(in % der Knaben)	
Abnahme bis 0 LB	9	21
Zunahme in der LB-Anfälligkeit	20	4
Abnahme in der LB-Anfälligkeit	42	65

Dazu ist zu bemerken: Eine Zu- oder Abnahme wurde nur dann angenommen, wenn dieselbe mindestens die Hälfte der vorher festgestellten LBZ betrug. Wie man aus der Tabelle ersieht, lauten die Resultate sehr positiv.

Neueste Versuche von *White* (43) ergeben Resultate, die mit den vorherigen übereinstimmen: Die LBZ kann durch Penicillin reduziert werden. Bei kleinen Penicillinmengen wird das Gleichgewicht in der Mundflora wenig verändert, obwohl die Anzahl der Bakterien abnimmt. Gewisse gram (—) Bakterien nehmen mit größerer Penicillinmenge zu. Dies wird dahin gedeutet, daß diese den Platz von jenen Bakterien (darunter LB) einnehmen, die vom Penicillin zerstört wurden.

Von einem größeren Versuch *Hill's*, an dem 166 Kinder beteiligt waren, stammen die folgenden Ergebnisse (44). Die Kinder pflegten ihre Zähne normal zu Hause ohne Aufsicht. Der Versuch dauerte ein Jahr. Die LBZ zeigten, daß 18,4 % der Kinder konstant negativ bleiben. Die Resultate wurden folgendermaßen ausgewertet:

Einteilung der LBZ in drei Klassen:

1. 100—500
2. 500—20 000
3. 20 000 u. m. LB in ccm Speichel

Klasse 1: Mit Penicillin, Zunahme von 8 auf 52 %
Ohne Penicillin, Zunahme von 12 auf 42 %

Klasse 2: Mit Penicillin, Zunahme von 30 auf 35 %
Ohne Penicillin, Zunahme von 30 auf 38 %

Klasse 3: Mit Penicillin, Abnahme von 60 auf 10 %
Ohne Penicillin, Abnahme von 50 auf 20 %

Die Kariesuntersuchung dagegen zeigte ein weniger günstiges Bild: Die Unterschiede in der mittleren Zunahme an neuen Kariesläsionen erwies sich als statistisch nicht signifikant. Der Autor erhebt den Zweifel, daß, obwohl die LB rapid abnahmen, daraus nicht unbedingt eine Kariesverminderung folge. Wichtig ist ferner, daß die Kariesuntersuchung sehr streng durchgeführt wurde (u. a. durch Röntgenstaten). Diese sind offensichtlich bedeutend genauer als eine Untersuchung nur mit Spiegel und Sonde. Aus diesem Grunde ist überhaupt beim Vergleich von Resultaten aus verschiedenen Untersuchungen Vorsicht geboten, da nicht alle unter gleichen Bedingungen stattfinden. Daß die Resultate im obigen

Versuch nicht so günstig wie erhofft ausfielen, schreibt der Autor dem Umstand zu, daß sich die Probanden nicht immer genau an die Instruktionen (zweimal tägliche Reinigung) hielten. Dies mußte angenommen werden, weil nicht alle Kinder den gleichen Pastenverbrauch aufwiesen. Allergische Reaktionen wurde keine beobachtet.

Ein weiterer Versuch von *Zander* stammt aus dem Jahre 1950 (15) mit dem Unterschied, daß dieses Mal die Reinigung der Zähne mit einer Penicillinpaste unter Aufsicht erfolgte. Daran beteiligten sich Kinder von 6—11 Jahren, 255 mit Penicillinzahnpulver, 174 als Kontrollgruppe ohne Penicillin.

Genaue Röntgenstaten wurden erstellt und die Mundverhältnisse geprüft. Zur Reinigung diente ein Zahnpulver mit 500 E. K.-Penicillin per gr. Die Anwendung erfolgte einmal pro Tag unter Aufsicht in der Schule, zweimal zu Hause ohne Aufsicht. Die Kariesanfälligkeit war bei beiden Gruppen zu Beginn des Versuches ungefähr die gleiche. Dauer des Versuches: Zwei Jahre. Schon nach dem ersten Jahr wurden günstige Resultate erzielt. Im übrigen ist zu bemerken, daß sämtliche Milchzähne und bleibenden Zähne bei der Kontrolle miteinbezogen wurden.

Die mittlere Reduktion der Karies betrug:

Für die bleibenden Zähne: 53,6 %

Für die Milchzähne: 56,7 %

Nach dem zweiten Jahr erwartete man bedeutend weniger günstige Resultate. Doch noch bessere Resultate beweisen, daß die befürchtete Penicillinresistenz nicht eintrat:

Mittlere Reduktion an bleibenden Zähnen: 48,6 %

Mittlere Reduktion an allen Zähnen: 56,8 %

An allergischen Reaktionen wurden nur vereinzelte „perlèches“ beobachtet, die aber nach Unterbruch mit Penicillin verschwanden. Sie blieben auch weg, wenn der Penicillingebruch wieder einsetzte. Andere allergische Erscheinungen standen in keinem Zusammenhang zum Penicillin. Wie die obigen Resultate andeuten — sie fielen trotz sehr genauer Kontrolle meist günstig aus — kann durch Penicillin eine Karieseindämmung bei Kindern erwirkt werden.

c) Fluor

Als man im Jahre 1928 in Bauxite, Arkansas, Analysen des Trinkwassers anstellte, fand man heraus, daß Fluor in starker Konzentration die Ursache des gefleckten Schmelzes «mottled enamel» ist. Als *Miller* (16) dagegen Versuche mit Fluor machte, das er in geringen Mengen unter die Nahrung von Versuchstieren mischte, stellte es sich heraus, daß auf diese Weise Karies eingedämmt wurde. Die gesamte Fluortherapie gehört übrigens in das Kapitel der konditionalen Kariesprophylaxe, die zum Ziele hat, die Zähne, resp. deren Konditionen gegen die Säurewirkung zu verbessern. Dies kann auf vierfache Weise geschehen: Einnahme von fluorhaltigem Trinkwasser (sei es, daß man Fluor dem Wasser künstlich beifügt, oder daß das Wasser bereits ein Optimum an Fluor enthält), ferner durch Beigabe zur Nahrung, durch Beimischung zu Pasten und Mundwassern und schließlich durch lokale Applikation an den Zähnen. Die Veröffentlichungen über Fluor, vor allem in den USA, sind fast unabsehbar. Das Seriöseste und wissenschaftlich gut Fundierte soll kurz herausgegriffen und an Hand dessen die Wirkung gegen die Karies erläutert werden, miteingeschlossen die Wirkung gegen die LB.

Trinkwasser mit natürlichem Fluorgehalt: Im Anschluß an die Veröffentlichungen von *Dean* (47), der erkannte, daß die Kariesanfälligkeit in Gebieten mit endemischer Dentalfluorosis (mottled enamel) kleiner ist, wurden ausgedehnte Untersuchungen über diese «Krankheit» angestellt. Man wollte erforschen, wieweit eine verminderte Kariesanfälligkeit in Gebieten mit verschiedenem Fluorgehalt im Trinkwasser vorhanden ist. Im Jahre 1939 nahm man in vier Städten in Illinois Untersuchungen vor (48). Die Resultate ergaben, daß Kinder, die in Gebieten mit fluorhaltigem Trinkwasser geboren wurden und dort lebten, nur um einen Drittel soviel Karies aufweisen, wie diejenigen in fluorfreien Gebieten. *Jay* und *Arnold* veröffentlichten weitere Resultate von 4000 Speicheluntersuchungen (49). 12—14jährige Kinder aus Gebieten mit niederem und hohem Fluorgehalt im Trinkwasser lieferten die Proben. Diese wurden nach den unten beschriebenen Methoden kultiviert, die LB ausgezählt und in Klassen eingeteilt. Nachfolgend die Resultate der Zählungen. Der größte Unterschied wurde in der Gruppe 0 100 und 20000 30000 LB pro ccm Speichel festgestellt:

Fluorgehalt des Trinkwassers in ppm ¹⁾ /ccm	Anzahl der untersuchten Kinder	LBZ	
		0—100	20,000 u.m.
mehr als 1,0	1052	37,5 %	28,7 %
0,5	250	21,2 %	40,0 %
0,0	1087	17,8 %	52,4 %

Daraus ersieht man, daß mit steigendem Fluorgehalt der prozentuale Anteil der 0—100-Klasse ansteigt, derjenige der 20 000-Klasse fällt. Diese Zahlen bestätigen wiederum, daß die LBZ als ein zuverlässiger Index des Kariesbefalls gelten können. Die Unterschiede in der Verteilung der hohen und niederen LBZ in den Fluor- und fluorfreien Gebieten deuten an, daß die karieshindernden Eigenschaften des fluorhaltigen Wassers auch ihren Einfluß auf die Bakterienflora des Mundes haben.

Um diese Hypothese weiter zu festigen, schritt man zu größeren Untersuchungen. So liegen Resultate aus acht Vorstädten Chicagos vor (50), die bestätigen, daß der Genuß von fluorhaltigem Wasser von Geburt an gefolgt ist von einer verminderten Kariesanfälligkeit. Einige Ziffern daraus: Die Kinder im Alter von 12—14 Jahren in Aurora, dessen Trinkwasser 1,2 ppm Fluor enthält, zeigen einen DMF²⁾ von 281. Kinder, die in einem fluorfreien Gebiet geboren wurden und daselbst lebten (Evanston, Oak Park, Waukegan), zeigten einen DMF von 746, also ein Verhältnis 1 : 3 zu Gunsten der Fluorgebiete. *Arnold*, der von Untersuchungen über Fluor im Trinkwasser von 27 Städten berichtet, kommt zu folgendem Schluß: Es besteht eine geschlossene Beziehung zwischen dem Fluorgehalt im Wasser und der Kariesanfälligkeit (51). Die bakteriologische Untersuchung der Mundhöhlen von 12—14-Jährigen in den 27 Städten ergab bei fluorreichem Trinkwasser in 38 % negative LB-Resultate, bei fluorfreiem Trinkwasser in 18 %. Durch alle Untersuchungen wurde festgelegt, daß der optimale Fluorgehalt im Wasser zwischen 1 und 1,5 ppm liegt. Bei höherem Gehalt tritt Fluorosis in Erscheinung.

Künstlich fluoriertes Wasser: Eine natürliche Folge der obigen, günstigen Untersuchungsergebnisse, die noch gestützt wurden durch Berichte aus anderen Ländern, war der Ver-

¹⁾ ppm = parts per million (1 : 1 000 000).

²⁾ DMF = decayed, missed, filling teeth = Kariesindex. (Dieser Index wird zwar, was Genauigkeit anbetrifft, heute etwas bezweifelt.)

such, dem Trinkwasser künstlich Fluor beizumischen. Mit dieser künstlichen Fluorierung wurden große Versuche angestellt. Die ersten Resultate, die aus Grand Rapids, Michigan, stammen, waren nicht gerade überzeugend (52). Diese Stadt hatte dem Trinkwasser künstlich Fluor beigemischt. Schon vorher waren, unter Aufsicht der Gesundheitsbehörden, die Zähne der Kinder untersucht worden. Diese Kontrolle ging dann zwei Jahre lang weiter. Leider ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Kariesanfälligkeit gegenüber der Zeit ohne Fluor. Als man der Sache auf den Grund ging, stellte es sich heraus, und verschiedene Forscher haben das bestätigt, daß Fluor nur dann eine günstige antikariöse Wirkung entfalten kann, wenn die Kinder während der Bildungszeit, evtl. noch während der Durchbruchperiode der Zähne in den Genuß von Fluor kommen. Dies trifft auch zu für Gebiete mit natürlichem Fluor-Trinkwasser. Bessere Resultate, obige Feststellungen mit einbezogen, stammen aus Newburgh und Kingston (53), die von *Ast* veröffentlicht wurden. In der ersten Stadt wurde 1945 der Fluorgehalt des Wassers auf 1,0—1.2 ppm gebracht. In Kingston blieb das Wasser fluorfrei. In Newburgh wurden 3400, in Kingston 2800 Kinder untersucht. Der mittlere Erfolg der «fluorierten» Stadt beträgt nach der Statistik 33,8 %. Das bedeutet, daß auf 100 mögliche Kavitäten nur deren 66,2 erschienen, in Kingston dagegen 99,9. (Für Kinder von 6—12 Jahren). Dies bedeutet einen Erfolg, denn die Karies hatte sich um einen Drittel verringert. *Jeanneret*, der diese Statistik einer kritischen Prüfung unterzog, kommt zwar nur auf eine effektive mittlere Abnahme der Kavitäten um 7 % in Newburgh (54). Über den großangelegten, sog. «Evanstonversuch» (Anreicherung des Trinkwassers auf 1 ppm Fluor und Vergleich mit anderen Vororten Chicagos) liegen nach einem Jahr die ersten Resultate von *Davies* vor (55): Bereits nach diesem einen Jahr zeichnete sich eine ziemliche Abnahme der kariösen Zahnflächen ab, ebenso eine Abnahme der LBZ. 1951 veröffentlichte *Ast* neue Resultate. An Hand derselben wurde festgestellt (56): Die DMF-Ziffern der bleibenden Zähne der 6—12-Jährigen zeigen eine konstant sich neigende Richtung nach vier Jahren Fluorierung in Newburgh, während in Kingston sich keine Veränderung zeigt. Die Reduktion nach vier Jahren in Newburgh ist von 20,6 DMF pro 100 bleibende Zähne um 32,5 % auf 13,9 erfolgt. In Kingston keine Änderung.

Nach drei Jahren Fluorierung in fünf Städten Wisconsins gibt *Bull* die Reduktion der Karies mit 20 % an (57). Verschiedene andere Städte haben die Fluorierung angeordnet und zwar geschah diese durch Beifügen von NaF-Pulver oder durch 3½ %ige NaF-Lösung oder durch Fluorwasserstoffsäure. Alle drei Methoden sollen sich als praktisch, leicht kontrollierbar und billig erwiesen haben. Die Kosten betrugen pro Jahr und Kopf ca. 50 Rp. Die Vermutung, das künstlich angereicherte Wasser werde nicht den gleichen Karieschutz verleihen, konnte eindeutig widerlegt werden durch Labor- und Tierseuche, dann durch klinische Untersuchungen am Menschen.

Diese Ergebnisse lassen u. E. noch keine endgültigen Schlüsse zu, obwohl sie günstig lauten und die Fluorierung sehr propagieren. Weitere Resultate müssen noch abgewartet werden.

L o k a l e F l u o r a n w e n d u n g : Infolge der günstigen Auswirkungen der Kariesbekämpfung durch Fluor im Trinkwasser unternahm man Laborversuche, um die Wirkung des Fluors auf die harten Zahngewebe zu untersuchen. Es wurde von verschiedenen Forschern der Unterschied in der Schmelz- und Dentinlöslichkeit gegenüber Säuren untersucht, nachdem die Zähne verschiedenen Fluorlösungen ausgesetzt worden waren. Es zeigte sich, daß die *S ä u r e l ö s l i c h k e i t* von Schmelz und Dentin infolge der Fluor-einwirkung abnahm. Ferner wurden Zähne aus Fluor- und fluorfreien Gebieten untersucht. *McClure* fand (58):

	Fluorgehalt in	
	Dentin (in ‰)	Schmelz (in ‰)
1,1—1,2 ppm Fluor (Aurora)	0,0385	0,0133
Kein Fluor	0,0241	0,0102
Der Unterschied beträgt	0,0144	0,0031

Die Wichtigkeit dieser Zahlen, in Verbindung mit theoretischen Überlegungen über die Kariesätiologie, liegt in der Tatsache, daß eine Kariesreduktion, entstanden durch die Aufnahme von Trinkwasser, dessen Fluorgehalt nahe dem Optimum liegt, direkt verbunden ist mit einer Zunahme des Fluorgehaltes in Schmelz und Dentin. Zu dieser Fluor-Gehaltserhöhung kommt es aber nur, wenn Fluor während der *B i l d u n g s z e i t* der Zähne in denselben abgelagert wird. Eine Einlagerung des Fluors in den Zahnschmelz bei dieser Behandlungsweise müßte erst noch erwiesen werden, z. B. durch An-

wendung von radioaktiven Isotopen, wie dies von *Volker* mit Na^{18}F -Lösung durchgeführt worden ist. Unseres Wissens sind solche Versuche kürzlich in Angriff genommen worden (59).

Nachfolgend einige Ergebnisse von *Bibby* und *Cheyne* nach lokaler Fluoranwendung: An den bleibenden Zähnen von 100 Kindern von 10—13 Jahren wurde z. B. eine 1 : 100 000-NaF-Lösung angewendet. Die Kariesreduktion betrug nach einem Jahr 46 %, nach zwei Jahren 33 %, nach drei Jahren 36 % (60). Eine wässrige Lösung von ca. 500 ppm KF, appliziert an 27 Kindern im Alter von 4—6 Jahren vermochte schon in kurzer Zeit an den Milchzähnen die Karies um 50 % zu verringern (*Cheyne*) (61). *Knutson* und *Armstrong* erreichten eine 40 %ige Kariesreduktion durch Anwendung einer 2 %-NaF-Lösung bei 7—15jährigen Kindern (62). Bei diesem Versuch waren 289 Kinder mit Fluorapplikation, 326 dienten der Kontrolle, ohne Fluor. Vergleichend wurde festgestellt, daß eine viermalige Applikation zweimal mehr Reduktion ergibt gegenüber der zweimaligen Applikation, während eine sechsmalige dagegen keinen größeren Erfolg als die viermalige aufweist. Die Anwendung von PbF_2 zeitigte überhaupt keinen Erfolg. Die gleichen Autoren fanden ferner, daß vorgängig der Fluorapplikation eine prophylaktische Reinigung der Zähne stattfinden muß, ansonst sich die Karies nur zu 50 % verringert.

Kürzlich stellte *Kitchin* in seinem Experiment nach viermaliger Anwendung einer 2 %-NaF-Lösung die LBZ fest (63). Er fand aber keinen signifikanten Unterschied gegenüber der LBZ vor der Behandlung mit Fluor. Dies mag darauf hindeuten, daß Fluor nur in den Zahnhartgeweben angereichert wird und so einen vermehrten Säureschutz gewährt. Eine antibakterielle oder antienzymatische Wirkung wird vom Autor zwar nicht negiert, doch bestehen nach seiner Ansicht keine genügenden wissenschaftlichen Beweise dafür. Ueber die lokale Anwendung von Fluorlösungen wird von *Klinkenberg* und *Bibby* (64) ein überraschender Erfolg gemeldet: Während man diese Methode bei Erwachsenen als wirkungslos bezeichnete, erreichten die Forscher an 130 Studierenden (Durchschnittsalter 25 Jahre) eine Kariesreduktion von 44 %, kontrolliert 14 Monate nach der Applikation.

Methode: 1 %ige NaF-Lösung. Reinigung der Zähne eines Quadranten mit Bimsstein und Gummipolierern, sorgfältige Trock-

nung mit Alkohol und Warmluft, Applikation der Lösung. Nach Ablauf von zwei Minuten Wiederholung dieses Vorganges. Wie die Forscher ausdrücklich erwähnen, wiesen bei der Nachkontrolle 13 % der so behandelten Quadranten mehr Karies auf als die unbehandelten, ohne daß dafür eine Erklärung gegeben werden kann. In diesem Zusammenhang möchten wir die Versuche von *Schmid* (65) nicht unerwähnt lassen: Verwendung fand eine 12 %ige KCNS-Lösung, die, aufgepinselt auf die Zähne, 20 Minuten einwirkte. Dann folgte eine 2 %ige NaF-Lösung. Einwirkung ebenfalls 20 Min. Diese Prozedur wurde 7—8 mal wiederholt. An so behandelten und extrahierten Zähnen wurde eine Fluoranalyse vorgenommen. Resultat: Fluorgehalt der Zähne nach dieser Behandlung 1–5 mg⁰% höher.

Verwendung von Fluor in Mundwasser und Zahnpasta: *Atkins*, einer der ersten Forscher, der die Anwendung von Fluor auf diese Weise empfahl, gebrauchte zur Mundspülung eine Lösung, die 4 ppm Fluor enthielt. Diese durfte jeweiligen erst nach gründlicher Zahreinigung zur Anwendung kommen. Die LBZ von 20 Versuchspersonen verminderten sich um 87 %. Man darf aber vermuten, daß dieser Erfolg eher der gründlichen Reinigung zuzuschreiben ist (66). *Bibby* unternahm Versuche an 31 Hochschülern mit einer angesäuerten Fluorlösung. Die Mischung wurde hergestellt mit gepuffertem NaF. Das Kontrollmundwasser enthielt kein Fluor, hatte aber pH 4. Das Ergebnis fiel negativ aus. Die Versuche wurden von *Bibby* nicht aufgegeben, im Gedanken, Kinder wären für die Versuche geeigneter. Er wiederholte solche an einer großen Anzahl (300). Die eine Hälfte erhielt Fluor-Mundwasser, die andere Mundwasser ohne Zusatz. Resultat: Wiederum negativ (67). Tierversuche dagegen waren positiv bei Anwendung von gewöhnlichem statt angesäuertem NaF. Darauf machte er Versuche mit einer flüssigen Paste an 72 Jungen (5—16-jährig). Trotz einer vorübergehenden Abnahme der LBZ konnte keine Kariesreduktion festgestellt werden, sowohl nach dem ersten, wie auch nach dem zweiten Jahr (68). *Schmid* dagegen berichtet folgendes (69): Bei Anwendung von Fluorpasten ergibt eine Aschenanalyse keine meßbare Änderung, doch beträgt der kariesvermindernde Effekt in 2000 Fällen aus den Jahren 1946—48 30 %. Die Frage, ob sich fluorhaltige Zahnpasten für lokale Therapie eignen, scheint noch unentschieden zu sein.

Zusammenfassend darf man festhalten, daß die Wirkung des Fluors am größten ist bei Einnahme im Trinkwasser oder bei lokaler Applikation. Die Versuche von *Lukomsky* (70) wollen wir nicht unerwähnt lassen: Er hat bei Schulkindern eine Hälfte des Gebisses mit einer Natriumfluoridzahnpaste, die andere Hälfte nicht behandelt. Später wurde auf der unbehandelten Seite Karies beobachtet. Diese Resultate, falls sie nicht allein mechanisch bedingt sind, könnten auch für eine lokale Wirkung des Fluors im Sinne einer fermentativen Hemmung sprechen. U. E. können diese Mittel vor allem bei der Durchbruchperiode der Zähne eine Wirkung haben, während später ein Eindringen des Fluors fraglich ist.

Es sei noch beigefügt, wie man sich die Wirkung des Fluors vorstellt, ohne Rücksicht auf die Art seiner dentalen Anwendung (71):

1. Herabsetzung der Löslichkeit des F-Hydroxylapatits, daher kleinere Abbaugeschwindigkeit beim Kariesangriff. (Amerikanische In-vitro-Versuche bestätigen teilweise diese Hypothese).
2. Hemmung der sauren Phosphatase die bei der Karies wirksam ist.
3. Günstiger Einfluß auf Speichelmenge und -viskosität.

B. Experimenteller Teil

1. Methodik der Laktobazillenzählung

Die zahnärztliche Klinik der Universität Michigan (USA) begann als erste durch LB-Zählungen im Speichel die Diagnose der Kariesaktivität zu erbringen (72—76). Darnach wurde ein ganz spezieller Diätplan aufgestellt, der eine Verminderung der aktiven Karies gewährleisten sollte. Die Patienten hatten sich, je nach LBZ in Gruppen eingeteilt, einer verschieden strengen Diät zu unterziehen, die vor allem eine mindere oder größere Einschränkung der Kohlenhydrate vorsieht.

Beispiel einer solchen Gruppeneinteilung nach LBZ (77)

Bezeichnung:	Anzahl LB pro cem Speichel:	Prädikat:	Therapie:
±	= $0-10^3$	kariesinaktiv	
+	= $10^3-5 \times 10^3$	vermutlich noch inaktiv	
++	= $5 \times 10^3-10^4$	vermutlich aktiv	Zucker vermeiden
+++	= $10-50,000$	kariesaktiv	strikte Diät empfohlen
++++	= $50,000$ u.m.	kariesaktiv	strikte Diät empfohlen

Noch genauer darauf einzugehen würde zu weit führen. Wir teilen hier lediglich die Methode der Kultivierung der LB und deren Zählung mit, die wir für unsere Untersuchungen mit geringen Varianten übernommen haben (78).

Als Versuchspatienten dienten uns 100 12—14jährige Schulkin- der einer sechsten Primar-, sowie einer ersten und zweiten Sekundar- klasse einer Zürichseegemeinde. Lehrer und Schüler wurden vorerst genau über Ziel und Zweck, nämlich die Zahnpaste AMANTIN (Hamol AG., Zürich) auf ihre Wirksamkeit gegen die LB zu prüfen, orientiert. Auch die Eltern erhielten mittels eines kurzen Zirkulars die nötigen Instruktionen. Damit erhofften wir eine verständnisvolle Mitkontrolle der Erwachsenen, um sichere und genaue Resultate zu erhalten. Die Schüler haben sich, soweit wir sehen konnten, ernst-

haft und pflichtgetreu an die Weisungen gehalten. Jedes Kind hatte jeweils bei der Speichelabgabe ein entsprechendes Kontrollblatt auszufüllen. Daneben führten wir selbst eine Tabelle über jedes Kind zur Aufnahme der verschiedenen Termine und Zählungsergebnisse. Zur Speichelabgabe dienten den Schülern die üblichen, vom Hygieneinstitut Zürich gelieferten, sterilen Sputumröhrchen. Diese trugen eine rote Marke zur Abmessung von ca. 2 cm. Eine Etikette nahm den Namen des betreffenden Kindes auf. Die Kinder mußten morgens, unmittelbar nach dem Aufstehen, die geforderte Speichelmenge in das Glas geben. Vor der Speichelabgabe irgendwelche Nahrung zu sich zu nehmen oder die Zähne zu reinigen war untersagt. Um Kindern mit schwachem Speichelfluß die Sputumabgabe zu erleichtern, verteilten wir Paraffinstückchen (Paraffin + Vaseline + Spuren von Rosenöl), womit die Sekretion gefördert wurde. Die Kinder brachten die gefüllten Röhrchen zur Einsammlung in die Schule.

Die weitere Arbeit wurde im Hygieneinstitut Zürich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. A. Grumbach vorgenommen. Zur Speichelverdünnung stand Bouillon zur Verfügung. Die Herstellung der Bouillon erfolgte nach dem Rezept Jay (78):

Zutaten: 1 l Wasser
500 g Kuhfleisch, mager
10 g Pepton (Siegfried)
5 g NaCl
HCl 1n
10 g Dextrose

Das Fleisch kommt zusammen mit Wasser über Nacht in den Kühlschrank. Filtrieren durch ein Leinentuch und das Fleisch abscheiden. Dann auf 1000 cm Wasser auffüllen. Nach dem Kochen Pepton und NaCl begeben. Während 20 Min. im Autoklav bei 110 ° C sterilisieren. Nachher wieder auf 1000 cm mit Wasser ergänzen und filtrieren. Mit HCl das pH auf 5,0 einstellen. Im Wasserbad 30 Min. kochen und abkühlen unter Hinzufügen von Glasperlen, um das Übersäumen zu verhindern. Wiederum auf 1000 cm nachfüllen und die Dextrose begeben.

Nun die Bouillon in Glaskolben verteilen und nochmals 20 Min. bei 110 ° C sterilisieren. Die fertige Bouillon dann in die erforderlichen sterilen Reagensgläser abfüllen. 4 cm Bouillon und 1 cm

Sputum ergeben somit die erforderliche Verdünnung 1 : 5. Ferner Bereitstellen der Nährböden für die Beimpfung. Diese bestehen aus Tomaten-Agar nach *Kulp*, Modifikation *Hadley* (79):

Zutaten: 3 kg Tomaten
 50 g peptonisierte Milch (*Difco*, USA)
 50 g Pepton (*Siegfried*)
 250 g Agar
 Aq. dest.
 NaOH ln
 Milchsäure ln

Die Tomaten werden zu Brei gequetscht und durch ein Tuch filtriert. Dies soll 2000 ccm Saft ergeben. Auf 50 °C erhitzen und dann abkühlen. Peptonisierte Milch und Pepton begeben. Dann 20 ccm NaOH begeben und mit der Milchsäure das pH auf 5,0 einstellen. Auf 2000 ccm Saft 3 l Wasser beifügen. Beides getrennt erhitzen, zusammengeben und vermischen. In fünf 1000-ccm-Glas-kolben liegen je 50 g Agar bereit. Die Flüssigkeit kochend einfüllen und dann 60 Min. im Autoklav bei 120 °C belassen. Dann nochmals filtrieren und pH kontrollieren. Wiederum 25 Min. im Autoklav bei 115 °C. Etwas abkühlen und NaN_3 (Natriumazid) beifügen in einer Verdünnung 1 : 10 000 (80). Durch die Beigabe von Natriumazid werden in bemerkenswertem Maße Mikro-, Staphylo-, und Streptokokken und Hefe im Wachstum behindert, ja sogar zum Verschwinden gebracht, ansonst eine Auszählung der LB unmöglich wäre. Darauf werden die erforderlichen Petrischalen, die aus Spar-samkeitsgründen vorher eine dünne Schicht gewöhnlichen Agars erhalten hatten, mit dem Tomaten-Agar beschickt. Dies darf erst kurz vor dem Impfen geschehen, da das Natriumazid, einmal im Agar, sehr unbeständig ist (Oxydation).

Das I m p f e n geschieht folgendermaßen: Die Sputumproben werden in der Schüttelmaschine während drei Min. geschüttelt. Mit einer sterilen 1-ccm-Pipette 1 ccm Sputum zu 4 ccm Bouillon ins Reagensglas geben und durch mehrmaliges Aufsaugen gründlich mischen. Von der Mischung 0,1 ccm auf den Agar geben und mit einem Glasspatel dünn ausstreichen. Den Glasspatel stellt man sich so her: Man nimmt eine feine Mäusepipette, schmilzt die Spitze in der Bunsenflamme zu und biegt 2 ccm derselben um 90°. Nach dem Impfen werden die Petrischalen verschlossen und während 96

Std. im Brutschrank bei 37 ° C bebrütet. Diese Arbeit (Schütteln sämtlicher 72 Sputumproben, Verdünnen, Impfen) nahm jeweils mit zwei Personen drei bis vier Stunden in Anspruch. Nach der Bebrütung müssen die Kolonien sofort ausgezählt werden, sonst werden sie in den Eisraum verbracht, damit keine Aenderung mehr eintreten kann.

Die Auszählung geschieht so: Die Platten müssen auf schwarzer Unterlage und bei guter Beleuchtung ausgezählt werden. Als Hilfsmittel dient eine Glasplatte, die in Felder zu 1 qcm eingeteilt ist. Die Petrischale deckt 60 Felder der Glasplatte. Davon zählt man wahlweise fünf Felder aus, oft unter Zuhilfenahme einer Lupe (Vergrößerung 1 : 10, zur Erfassung der ganz kleinen Kolonien). Die erhaltene LBZ wird durch fünf dividiert und mit 60 multipliziert, somit erhalten wir die LBZ der ganzen Platte. Wegen der Verdünnung und weil nur 0,1 ccm Sputummischung auf der Platte sind, muß noch mit 50 multipliziert werden. So erhält man schließlich die LBZ pro ccm Speichel.

Es hat sich etwa ergeben, daß gewisse Kolonien ein etwas verändertes Bild gegenüber dem normalen zeigten. Ein Ausstrich der fraglichen Kolonien und eine Gramfärbung klärten dann sofort, ob es sich um LB handelte oder nicht. Außer den LB wurden selbstverständlich keine anderen Bakterien mitgezählt.

2. Eigene Untersuchungen und Resultate

Unser Experiment fand nach folgendem Plan statt: Die ersten drei LB-Zählungen, vor dem AMANTIN-Gebrauch lagen innerhalb von ca. zwölf Tagen, wovon zwei kurz aufeinander folgten (Abstand drei Tage). Die erhaltenen LBZ dienten uns als Basis und besagen, wieviele LB der ccm Speichel eines Kindes enthält. Nach Ueberwindung der technischen Anfangsschwierigkeiten konnten je sechs Speichelproben von 72 Kindern ausgewertet werden. Wie aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich ist, sind die Werte von Zählung zu Zählung oft großen Schwankungen unterworfen. Wir schreiben dies der unterschiedlichen Ernährung (viel oder wenig Kohlenhydrate) und der ungleichen Zahnhygiene der Kinder zu. Die Schwankungen hätten sich vielleicht in kleinerem Rahmen gehalten,

wenn wir für den Versuch Institutskinder mit einheitlicher Ernährung ausgewählt hätten, und die Reinigung nach genauem Schema kontrolliert worden wäre. Unmittelbar im Anschluß an die dritte Speichelabgabe erhielten die Kinder AMANTIN zum Gebrauch. Zum vierten Male zählten wir bereits knapp eine Woche nach Beginn der AMANTIN-Verwendung die LB. Bereits diese Zahlenwerte sind in Einzelfällen erheblich kleiner. Die letzten zwei Auszählungen erfolgten im Abstand von drei Tagen nach einem Monat.

Ergebnisse der LB-Zählungen

Nr.	Name	Vor AMANTIN			Mit AMANTIN		
		1. Probe	2. Probe	3. Probe	4. Probe	5. Probe	6. Probe
1	M. R.	— ¹⁾	800	8400	1250	25	nihil ²⁾
2	W. M.	15600	69300	132000	14400	29400	30600
3	F. H.	7500	22800	2800	25200	17700	13500
4	K. H.	47700	1375	2000	2275	525	1250
5	H. V.	3300	65550	23400	inc. ³⁾	inc.	14700
6	K. T.	7500	12700	125	1200	1725	1625
7	L. E.	68400	39000	nihil	nihil	25	nihil
8	V. T.	19500	22800	2025	8400	11400	1225
9	E. E.	34500	12900	inc.	1350	1575	7800
10	L. H.	25	125	250	375	8000	150
11	A. A.	18000	7500	11250	3750	12000	325
12	H. I.	41100	46800	24000	6300	6600	6900
13	M. P.	23400	3925	—	425	125	225
14	B. E.	58500	13500	21000	725	2200	2000
15	K. K.	40500	52200	16800	19200	19200	11100
16	M. E.	7800	17700	14400	2600	11400	nihil
17	B. H.	16500	6000	500	250	150	nihil
18	B. A.	25500	13500	4100	2025	27300	20400
19	G. H.	32400	15000	75000	300	575	6600
20	W. H.	102900	71700	18000	—	55500	28500
21	O. E.	17100	17700	135000	12300	400	625
22	B. T.	750	475	125	nihil	100	25
23	M. Y.	51100	9750	775	825	25	nihil
24	B. V.	180	1850	50	nihil	950	25
25	L. W.	nihil	—	nihil	nihil	275	625
26	H. I.	13900	19200	17400	12300	19200	10800
27	G. V.	10800	9600	2075	250	15300	4635
28	G. A.	1150	2575	nihil	1175	925	925
29	V. R.	93000	60000	34500	54000	12000	14400

¹⁾ Keine Sputumprobe

²⁾ Keine LB

³⁾ Unzählbar

Vor AMANTIN

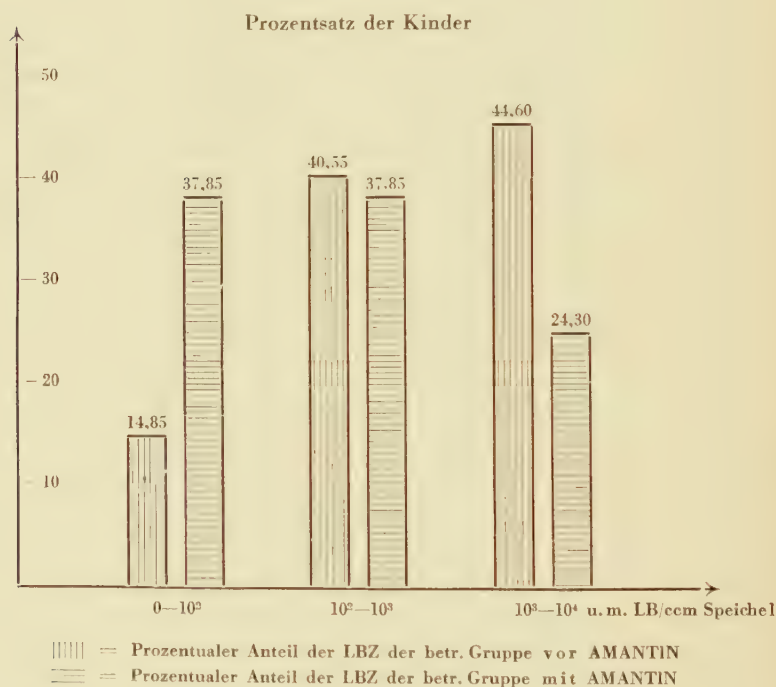
Mit AMANTIN

Nr	Name	1. Probe	2. Probe	3. Probe	4. Probe	5. Probe	6. Probe
30	S. W.	75000	inc.	11400	1125	4325	2200
31	K. J.	13750	—	125	13800	425	nihil
32	H. J.	150	200	150	200	635	875
33	E. G.	7800	1800	6750	2250	3050	2575
34	L. M.	1375	1500	4500	4300	3250	3475
35	P. E.	19500	18000	27300	12000	4025	3975
36	G. T.	625	275	1450	8700	300	325
37	M. J.	12400	27000	18300	17700	26400	15000
38	W. A.	22500	12000	16500	17400	12300	18000
39	M. O.	10800	12000	11100	—	150	850
40	S. H.	50100	20240	850	725	1100	775
41	M. A.	45300	44700	47100	—	13500	19500
42	A. E.	42750	7500	16500	1275	75	1500
43	N. V.	9900	1875	9000	300	1725	535
44	L. M.	54300	18300	100150	1650	23100	24600
45	B. E.	18900	10500	21300	12750	2500	—
46	H. E.	6000	12250	3050	4400	725	2000
47	R. R.	nihil	nihil	nihil	500	24900	3875
48	M. D.	52	300	—	—	—	—
49	G. E.	50	16800	64200	16800	1750	15300
50	G. H.	nihil	23400	1250	125	400	nihil
51	M. H.	57000	—	14100	16200	15600	12000
52	L. S.	40500	16500	18000	3600	2025	625
53	R. M.	9900	21000	25200	16800	12000	52500
54	H. E.	33600	49200	62700	24000	33900	12060
55	S. O.	nihil	nihil	nihil	nihil	175	nihil
56	H. H.	575	nihil	225	25	nihil	25
57	M. H.	17700	27300	—	800	675	50
58	Z. J.	1675	nihil	675	75	—	75
59	F. H.	3725	3450	nihil	200	175	25
60	M. A.	25500	850	12900	2150	7800	21300
61	R. W.	1750	450	200	375	1250	1475
62	G. H.	21000	12700	33900	—	16800	1500
63	L. G.	nihil	50	2725	50	—	100
64	G. S.	inc.	39000	20400	8100	9300	7500
65	W. A.	18000	12300	7500	1825	—	1075
66	N. W.	48900	12000	58500	10500	18000	11400
67	B. R.	—	78000	12600	28500	—	5375
68	E. B.	15600	33000	19800	19200	6400	1575
69	R. A.	13500	1250	1000	10800	275	2025
70	W. F.	11400	14400	625	1600	1725	1325
71	H. B.	275	4500	nihil	nihil	100	nihil
72	B. K.	13200	6300	200	nihil	20400	nihil
73	B. A.	15600	2150	3200	75	—	375
74	H. E.	11400	18000	850	750	675	4500

Interpretation und Diskussion der Resultate

Die vorgehend aufgeführten Einzelresultate wurden in Klassen geordnet. Sämtliche LBZ von 0–10 000 erhielten den Wert 1, die von 10–20 000 den Wert 2, von 20–30 000 den Wert 3 usw. (Dies für die statistische Auswertung.) Eine Häufigkeitstabelle bei differenzierter Klasseneinteilung und nach dem Prozentsatz der untersuchten Kinder ergibt folgendes Bild:

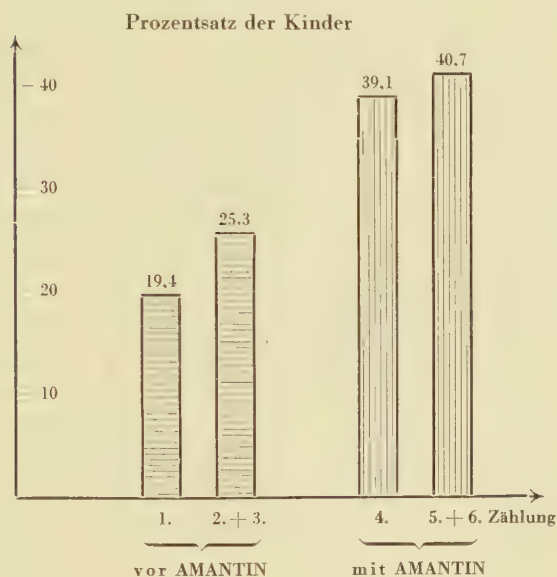
Abbildung 1



Durch den AMANTINGebrauch zeigt sich: In der ersten Gruppe eine Zunahme von 14,85 % um 23 % auf 37,85, in der zweiten bereits eine kleine Abnahme der LBZ um 2,7 % von 40,55 auf 37,85 %. Die dritte Gruppe, die vor dem AMANTINGebrauch den Hauptanteil bildete, ging von 44,60 um 20,30 auf 24,30 % zurück und bildet jetzt prozentual die kleinste Gruppe.

Abbildung 2

Vergleichende Darstellung der Kinder mit 0—1000 LB
pro cem Speichel in Prozenten vor und mit AMANTIN



Die vorhergehende Darstellung beweist, daß in der 1000-LB-Gruppe prozentual mehr Schüler sind, als vorher ohne AMANTIN. Die Zunahme in dieser Gruppe beträgt rund 20 0/0. Die folgenden Tabellen dienen der Feststellung der statistischen Signifikanz:

I. Zählungen 1—3 (v o r AMANTIN):

Klasse	x	n_1	$n_1 \cdot x_1$	x_1^2	$n_1 \cdot x_1^2$
1	-2	110	-220	4	440
2	-1	62	-62	1	62
3 (A ₀)	0	21	0	0	0
4	+1	10	+10	1	10
5	2	13	26	4	52
6	3	8	24	9	72
7	4	7	28	16	112
8	5	4	20	25	100
9	6	0	0	36	0
10	7	10	70	49	490
		245	-104		1338

$$\bar{x} = \frac{n_1 \cdot x_1}{n_1} = \frac{-104}{245} = -0,424$$

$$M_{x_1} = A_0 + bx = 1 + 3 \cdot (-0,424) = 2,576$$

$$\sigma_{x_1} = b \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^k n_i x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^k n_i x_i)^2}{n}}{n-1}} = 0,0833$$

$$\underline{\sigma_{x_1}} = \pm \sqrt{\frac{1338 - \frac{245 \cdot 0,424^2}{244}}{244}} = 2,30$$

$$\underline{\sigma_{M_1}} = \frac{\sigma_x}{n} = \frac{2 \cdot 3}{n} = \frac{2 \cdot 3}{15,65} = 0,14$$

Dabei bedeuten: M_x = Arithmetisches Mittel
 σ_x = standard deviation
 σ_M = Mittlerer Mittelwertfehler
 n = Anzahl der Proben

II. Zählungen 4—6 (mit AMANTIN): (Bedeutung der Zahlenreihe vgl. Schema I)

Klasse	x	n_1	$n_1 \cdot x_1$	x_1^2	$n_1 \cdot x_1^2$	
1	-2	150	-300	4	600	
2	-1	41	-41	1	41	
3	0	13	0	0	0	
4	+1	2	2	1	2	$M_{x_2} = 1,505$
5	2	0	0	4	0	$\bar{x}_2 = -1,495$
6	3	3	9	9	27	$\sigma_{x_2} = 1,186$
7	4	0	0	16	0	$\sigma_{M_2} = 0,0816$
8	5	0	0	25	0	
9	6	0	0	36	0	
10	7	2	14	49	98	
		211	-316		768	

Die Prüfung des Unterschiedes beider Messungsreihen ($M_1 - M_2$) zeigt, daß er statistisch zu sichern ist. Der Unterschied ist signifikant, wenn er größer ist, als der dreifache mittlere Fehler der Differenzen beider Mittelwerte (σ_{Diff}).

$$\sigma_{\text{Diff}} = \sigma_{M_1}^2 + \sigma_{M_2}^2 = 0,18$$

$$M_1 - M_2 = 1,071$$

$$3\sigma_{\text{Diff}} = 0,54$$

III. Zählungen 2—3 (v o r AMANTIN):

Klasse	x	n ₁	n ₁ · x ₁	x ₁ ²	n ₁ · x ₁ ²	
1	2	76	—152	4	304	
2	1	41	—82	1	41	
3	0	16	0	0	0	
4	1	6	6	1	6	M _{x₁} = 2,181
5	2	5	10	4	20	x = —0,819
6	3	3	9	9	27	σ _{x₁} = 2,51
7	4	5	20	16	80	σ _{M₁} = 0,17
8	5	3	15	25	75	
9	6	0	0	36	0	
10	7	6	42	49	294	
		161	—132		847	

IV. Zählungen 5—6 (m i t AMANTIN):

Klasse	x	n ₁	n ₁ · x ₁	x ₁ ²	n ₁ · x ₁ ²	
1	2	100	—200	4	400	
2	1	26	—26	1	26	M _{x₂} = 1,505
3	0	10	0	0	0	x ₂ = —1,495
4	1	2	2	1	2	σ _{x₂} = 1,132
5	2	0	0	4	0	σ _{M₂} = 0,0922
6	3	2	6	9	18	σ Diff. = 0,1065
7	4	0	0	16	0	M ₁ —M ₂ = 0,676
8	5	0	0	25	0	3σ Diff. = 0,3195
9	6	0	0	36	0	
10	7	1	7	49	49	
		141	—211		495	

V. Zählung 2 (v o r AMANTIN):

Klasse	x	n ₁	n ₁ · x ₁	x ₁ ²	n ₁ · x ₁ ²	
1	2	34	—68	4	136	
2	1	24	—24	1	24	
3	0	8	0	0	0	
4	1	4	4	1	4	M _{x₁} = 2,42
5	2	4	8	4	16	x ₁ = —0,58
6	3	1	3	9	9	σ _{x₁} = 1,926
7	4	3	12	12	36	σ _{M₁} = 0,214
8	5	2	10	25	50	
9	6	0	0	36	0	
10	7	1	8	49	49	
		81	—47		324	

VI. Zählung 3 (v o r AMANTIN):

Klasse	x	n_1	$n_1 \cdot x_1$	x_1^2	$n_1 \cdot x_1^2$		
1	—2	42	—84	4	168		
2	—1	17	—17	1	17	M_{x_2}	= 2,4625
3	0	8	0	0	0	$\overline{x_2}$	= —0,5375
4	+1	2	2	1	2	σ_{x_2}	= 2,485
5	2	1	2	4	4	σM_2	= 0,2785
6	3	2	6	9	18	σ Diff.	= 0,1115
7	4	2	8	16	32	$M_1 - M_2$	= 0,04
8	5	1	5	25	25	3σ Diff.	= 0,3345
9	6	0	0	36	0		
10	7	5	35	49	245		
		80	—43		511		

VII. Zählung 5 (mit AMANTIN):

Klasse	x	n_1	$n_1 \cdot x_1$	x_1^2	$n_1 \cdot x_1^2$		
1	—2	46	—92	4	184		
2	—1	14	—14	1	14		
3	0	6	0	0	0	M_{x_1}	= 1,625
4	+1	1	1	1	1	$\overline{x_1}$	= —1,375
5	2	0	0	4	0	σ_{x_1}	= 1,365
6	3	1	3	9	9	σM_1	= 0,1642
7	4	0	0	16	0		
8	5	0	0	25	0		
9	6	0	0	36	0		
10	7	1	7	49	49		
		69	—95		257		

VIII. Zählung 6 (mit AMANTIN):

Klasse	x	n_1	$n_1 \cdot x_1$	x_1^2	$n_1 \cdot x_1^2$		
1	—2	54	—108	4	216		
2	—1	12	—12	1	12	M_{x_2}	= 1,39
3	0	4	0	0	0	$\overline{x_2}$	= —1,61
4	+1	1	1	1	1	σ_{x_2}	= 0,8507
5	2	0	0	4	0	σM_1	= 0,1
6	3	1	3	9	9	σ Diff.	= 0,1833
7	4	0	0	16	0	$M_1 - M_2$	= 0,235
8	5	0	0	25	0	3σ Diff.	= 0,5499
9	6	0	0	36	0		
10	7	0	0	49	0		
		72	—116		238		

3. Zusammenfassung

Wie ersichtlich, wurden vorerst sämtliche Zählungsergebnisse, vor und mit AMANTIN miteinander verglichen. (Tabellen I und II). Die Differenz der LBZ vor AMANTIN gegenüber derjenigen mit AMANTIN erweist sich als statistisch signifikant. Als zweites wurde ein Vergleich zwischen den LBZ der 2./3. Zählung und 5./6. Zählung vorgenommen (III und IV). Diese liegen jeweils näher beieinander und sind weniger großen Schwankungen unterworfen: Auch hier nach der 3σ -Regel statistische Signifikanz. Probehalber wurden noch die LBZ der 2./3. und jene der 5./6. auf Signifikanz geprüft (V–VIII). Zur Bestätigung, daß die Zählungen nahe beieinander liegen und keinen allzugroßen Schwankungen unterworfen sind, ergibt sich keine statistische Signifikanz.

Die tägliche, systematische Zahnreinigung mit AMANTIN während dieser relativ kurzen Zeit führte zu einer sicheren Senkung der LBZ im Speichel. Es ist wenig wahrscheinlich, daß diese Senkung auf eine verbesserte Zahnbürstentechnik zurückzuführen ist. Nachkontrollen haben ergeben, daß die Kinder ihre Zähne systematisch wie bis anhin auch während des Versuches pflegten. Auf eine kontrollierte Zahnreinigung haben wir schon aus organisatorischen Gründen verzichtet. Wir ließen uns von der Ansicht leiten, daß nur dann ein sicherer und unbeeinflußter Erfolg eintreten kann, wenn die Probanden ihre bis anhin gewohnte Zahnpflege übten.

Die im AMANTIN enthaltenen Wirkstoffe sind folgende:

Chlorophyll	2 ‰
Carbamid	3 ‰
Dibas. Ammoniumphosphat	4 ‰
Na-Fluorid	0,2 ‰

Unsere Untersuchung gestattet keine Aussage, welcher Wirkstoff für den bakteriologischen Effekt verantwortlich zu machen ist. Kesel hat in zahlreichen Arbeiten auf den LB-hemmenden Einfluß Ammoniumion-enthaltender Zahnreinigungsmittel hingewiesen, u. a. an Hand einer 18 Monate laufenden LB-Zählung (26, 81). Kirchheimer und Douglas (82), ferner Davies (83) bezweifeln sehr, daß die LB-Hemmung durch Carbamid und Ammoniumphosphat genügend

ausgeprägt ist, um in kariestherapeutischer oder -prophylaktischer Hinsicht von Interesse zu sein.

Die Konzentration des im AMANTIN enthaltenen Na-Fluorids wirkt nicht direkt bakteriostatisch, hingegen hemmt es den enzymatischen Zuckerabbau der LB und damit die Säurebildung (84). Da ein saures Milieu Voraussetzung zur LB-Vermehrung ist, könnte ihm eine LB-senkende Wirkung zukommen.

Auf die Wirkung von Chlorophyll wurde bereits hingewiesen.

Wir überlassen es weiteren Beobachtungen, ob die LB-senkende Wirkung des AMANTINS auch mit einer Karieshemmung verbunden ist und ob diese durch die Bakteriostase oder durch einen anderen Mechanismus zustande kommt. — Verschiedene Angaben, die aus der Beobachtung von Patienten aus Klinik und Praxis während zwei Jahren stammen, scheinen die Möglichkeit zu bestätigen, floride Karies mit AMANTIN einzudämmen. Nicht sicher erwiesene Angaben gehen dahin, daß Zahnfleischblutungen abnehmen. Ferner soll durch den AMANTIN-Gebrauch die Empfindlichkeit bloßgelegter Zahnhälse zurückgehen. Es scheint uns lohnenswert, diese Fragen weiter abzuklären.

Nachfolgend soll noch kurz der Inhalt dieser Arbeit wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Im allgemeinen Teil der Arbeit wird die Bakteriologie der Laktobazillen und ihre Bedeutung im Entstehen der Karies besprochen.
2. Im weiteren werden die wichtigsten Faktoren, die das Wachstum der Laktobazillen im Speichel hemmen — Ammoniumion, Chlorophyll, Vitamin K, Penicillin und Fluor — erwähnt.
3. Im experimentellen Teil wird vorerst die Methodik, mit welcher die Laktobazillenzahl im Speichel bestimmt wird, beschrieben.
4. Nachher werden die Resultate der eigenen Untersuchungen zusammengefaßt. Die Versuche wurden an einer größeren Zahl von Schulkindern durchgeführt, wobei die Laktobazillenzahl im Speichel dreimal vor und dreimal nach Gebrauch von Amantin (Chlorophyll, Fluor, Ammoniumion-Zahnpaste) bestimmt wurde. Die erste Zählung wurde knapp eine Woche nach Verwendung von Amantin Zahnpaste und die zweite und dritte Zählung nach rund einem Monat durchgeführt. Die erhaltenen Resultate wurden statistisch genau bearbeitet.
5. Es zeigte sich, daß die tägliche systematische Zahnreinigung mit Amantin in relativ kurzer Zeit zu einer sicheren Verminderung der Zahl der Laktobazillen im Speichel führt.

Literatur-Verzeichnis

- 1 cf. *Topley and Wilson*: «Principles of bacteriology and immunity, Vol. I, III. Edition, E. Arnold, London, 1946
- 2 *Ericsson, Haegglund*, OrSurgOrMedOrPath., 4:393, 1951
- 3 *Kulp and White*, cit. in OrSurgOrMedOrPath., 4:394, 1951
- 4 *Miller, W. D.*, cit. bei *Greve*: «Die Zahnkaries». Wissensch. Verlags-GmbH, Stuttgart 1949, pg. 9 ff.
- 5 *Leuwenhoeck*, cit. in JADA, 16:2054, 1929
- 6 *Kliger*, cit. bei *Greve*: «Die Zahnkaries» (cf. 4) pg. 1 ff.
- 7 *McIntosh*, cit. bei *Greve*: «Die Zahnkaries» (cf. 4) pg. 1 ff.
- 8 *Bunting, R. W.*, JADA, 12:381, 1925
- 9 *Bunting, R. W.*, Dent. Cosmos, 68:931, 1926
- 10 *Bunting, R. W.*, Dent. Cosmos, 70:11, 1928
- 11 *Bunting, R. W.*, JADA, 16:224, 1929
- 12 *Hadley und Bunting*, JADA, 17:2041, 1930
- 13 *Jay*, JADA, 23:846, 1936
- 14 *Becks und Jensen*, JADA, 31:1189, 1944
- 15 *Jeanneret*, SMfZ, 59:330, 1949
- 16 *Miller*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 17 *Grove und Grove*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 18 *White und Bunting*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 19 *Kesel und O'Donnell*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 20 *Stephan und Miller*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 21 *Grove und Grove*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155 ff., 1950
- 22 *Kesel et al.*, cit. bei *Ballantyne*, JDentRes., 30:385, 1951
- 23 cf. *Boitel*, SMfZ, 59:999, 1949
- 24 *Cary*, cit. bei *Ballantyne*, JDentRes., 30:385, 1951
- 25 *Stephan*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155, 1950
- 26 *Kerr und Kesel*, JADA, 42:180, 1951
- 27 *Henschel und Lieber*, cit. bei *Kniesner*, JADA, 40:155, 1950
- 28 *Kniesner*, JADA, 40:155, 1950
- 29 *Grove und Grove*, cit. bei *Boitel*, SMfZ, 59:999, 1949
- 30 *Wach et al.*, cit. bei *Boitel*, SMfZ, 59:999, 1949
- 31 *Howe*, cit. bei *Boitel*, SMfZ, 59:999, 1949
- 32 *Fosdick*, cit. bei *Boitel*, SMfZ, 59:999, 1949
- 33 *Davies und King*, JDentRes., 30:645, 1951
- 34 *Kerr und Kesel*, JADA, 42:180, 1951
- 35 *Pearlmann und Hill*, JDentRes., 30:556, 1951
- 36 *Bürgi*: «Das Chlorophyll als Pharmakon», Verlag G. Thieme, Leipzig 1932
- 37 *Westcott*, Council reports on status of Chlorophyll, JADA, 38:369, 1949
- 38 *Rapp*, cit. bei *Kesel*, OrSurgOrMedOrPath., 4:439, 1951
- 39 *Fosdick*, cit. in «Die Vitamine» (Hofmann-La Roche, Basel), 5/6:107, 1951
- 40 *Fosdick*, JDentRes., 27:235, 1948
- 41 *Zander*, JDentRes., 26:454, 1947
- 42 *Hill*, JDentRes., 26:454, 1947

- 43 *White*, JDentRes., 28:267, 1949
- 44 *Hill*, JDentRes., 28:263, 1949
- 45 *Zander*, JADA, 40:569, 1950
- 46 *Miller*, cit. in JADA, 34:719, 1947
- 47 *Dean*, cit. bei *Hess*, SMfZ, 59:341, 1949
- 48 *Dean* et al., Publ. Health Rep., 54:862, 1939
- 49 *Jay*, *Arnold*, in «Dental Caries and Fluorine», Washington, 1946, pg. 43
- 50 *Dean* et al., Publ. Health Rep., 56:761, 1941
- 51 *Arnold*, cit. bei *Hess*, SMfZ, 59:341, 1949
- 52 cit. in JADA, 37:434, 1948
- 53 *Ast* et al., Publ. Health. Rep., 40:716, 1950
- 54 *Jeanneret*, SMfZ, 61:948, 1951
- 55 *Davies*, JADA, 40:37, 1950
- 56 *Ast*, JADA, 42:188, 1951
- 57 *Bull*, Dent. Dig., 258, 1949
- 58 *McClure*, JDentRes., 30:172, 1951
- 59 *Volker*, J. F. et al. J. Biol. Chem. 134:543, 1940
- 59 *Volker*, J. F., et al. Am. J. Physiol. 132:707, 1941
- 60 *Bibby*, JADA, 31:317, 1944
- 61 *Cheyne*, JADA, 29:804, 1942
- 62 *Knutson*, Pub. Health. Rep., 58:1701, 1943
- 63 *Küchin*, JDentRes., 30:251, 1951
- 64 *Klinkenberg*, *Bibby*, JDentRes., 29:4, 1950
- 65 *Schmid*, *Hch.*, SMfZ, 7:672, 1948
- 66 *Atkins*, cit. bei *Bibby*, JDentRes., 27:267, 1948
- 67 *Bibby*, JDentRes., 27:368, 1948
- 68 *Bibby*, JDentRes., 27:368, 1948
- 69 *Schmid*, *Hch.*, SMfZ, 7:672, 1948
- 70 *Lukomsky*, cit. in Bulletin Valencia, 16:1, 1953
- 71 *Knappwost*, Zahnärztl. Praxis, 12:42, 1950
- 72 *Permar*, OrSurgOrMedOrPath., 8:1008, 1949
- 73 *Bunting* et al., Dent. Cosmos, 68:931, 1926
- 74 *Bunting* et al., Dent. Cosmos, 70:11, 1928
- 75 *Jay*, JADA, 16:230, 1929
- 76 *Jay*, JADA, 20:2130, 1933
- 77 *Jay*, J. New Jersey Dent. S., 15:20, 1944
- 78 *Permar*, cf. 72
- 79 *Permar*, cf. 72
- 80 *Diamond*, JDentRes., 29:8, 1950
- 81 *Kesel* et al., OrSurgOrMedOrPath., 4:439, 1951
- 82 *Kirchheimer* und *Douglas*, JDentRes., 29:320, 1950
- 83 *Davies* and *King*, JDentRes., 30:645, 1951
- 84 *Meyerhof*, Erg. Physiol., 39:1937

Schluß

Allen meinen Lehrern, besonders aber Herrn Privatdozent Dr. H. R. *Mühlemann* in Zürich, der bei der Behandlung dieses Dissertationsthemas und vor allem auch bei der statistischen Auswertung der Resultate mir mit wertvollsten Ratschlägen und Hinweisen zur Seite stand, gebührt mein aufrichtiger Dank.

Besonders verbunden bin ich auch Herrn Dr. J. C. *Somogyi* in der Firma *Hamol AG.*, Zürich-Wollishofen, für die Anregung dieser Untersuchung, sowie dem Unternehmen selbst, das durch materielle Unterstützung die zu dieser Arbeit notwendigen Versuche ermöglichte.

Nicht zuletzt gehört mein aufrichtiger Dank Herrn Prof. Dr. A. *Grumbach* für seine wertvollen Ratschläge und Hinweise bei meiner Arbeit am Hygieneinstitut der Universität Zürich.

Sehr zu Dank verpflichtet bin ich auch meinem ehemaligen Lehrer, Prof. Dr. med. P. *Schmuziger*, dem Leiter der chirurgischen Poliklinik des Zahnärztlichen Institutes, der meiner Arbeit als Referent großes Interesse entgegengebracht hat.

Curriculum vitae

Ich, *Hans Heinz Zwimpfer*, von Oberkirch (Luzern), wurde am 6. Oktober 1923 als ältester Sohn von Dr. med. dent. Hans Zwimpfer, eidg. dipl. Zahnarzt, und der Anna, geb. Holland, in Aarau geboren. Nach Besuch der fünf Primarklassen an der Uebungsschule des dortigen Aargauischen Lehrerinnenseminars und der Bezirksschule Aarau während zweier Jahre, trat ich auf das Sommertrimester 1937 ins achtklassige Stiftsgymnasium der Benediktiner in Engelberg ein und beschloß dort meine Mittelschulstudien im Juni 1944 mit der eidg. Maturitätsprüfung Typus A. Da ich mich für den Beruf meines Vaters entschieden hatte, begann ich im folgenden Herbst mein akademisches Fachstudium. Die vorklinischen Semester belegte ich in Freiburg i. Ue., wo ich im Herbst 1945 das erste, im Herbst 1947 das zweite medizinische Propaedeutikum bestand. Die gesamte klinische Ausbildung genoß ich am Zahnärztlichen Institut der Universität Zürich. Nach erfolgreicher Absolvierung des Staatsexamens wurde mir am 8. Mai 1950 das eidgenössische Diplom für Zahnärzte ausgestellt. Seither bin ich als Assistent in Privatpraxen tätig.

